UNIVERSITE DE PARIS — FACULTE DE PHARMACIE

Année 1965 - 1966 — Série E - n°

T H E S E

présentée

A LA FACULTE DE PHARMACIE

DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'Etat)

par

Nicole LEGER

Pharmacien

Chef de travaux (ff.) à la Faculté

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPORTEMENT BIOLOGIQUE DU CYSTICERCOIDE D'HYMENOLEPIS NANA VAR. FRATERNA VIS-A-VIS DE SES HOTES ET DES MEDICAMENTS.

Soutenue le

Membres du Jury : MM. R. CAVIER, Président

A. GERMAN } Examinateurs

J. SAVEL }

UNIVERSITE DE PARIS — FACULTE DE PHARMACIE

Année 1965 - 1966 — Série E - n°

T H E S E

présentée

A LA FACULTE DE PHARMACIE

DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'Etat)

par

Nicole LEGER

Pharmacien

Chef de travaux (ff.) à la Faculté

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPORTEMENT BIOLOGIQUE DU CYSTICERCOIDE D'HYMENOLEPIS NANA VAR. FRATERNA VIS-A-VIS DE SES HOTES ET DES MEDICAMENTS.

Soutenue le

Membres du Jury : MM. R. CAVIER, Président

A. GERMAN } Examinateurs

J. SAVEL }

ADMINISTRATION

MM.	G. VALETTE. O .※. C. Q Ord. Nat. du Mérite	*Doyen*
	MM. JANOT. O ※. C. Q.	*Assesseur*
	P. MALANGEAU. O. Q.	*Assesseur*
	L. RODINEAU. ※ O. Q.	*Secrétaire Général*
Mme	S. FERRARI. Q.	*Attachée Principale*
	M. L. ESPINASSE. O. Q.	*Attachée*
M.	L. JEANDEL. O. Q.	*Attachée*
Mme	C. PEILLON.	*Attachée*
Mme	G. RENNETEAU.	*Attachée*
M.	A. BRENN. ※.	*Attaché*
Mle	G. BIDEAU.	*Secrétaire*
Mme	S. CERTAIN. O. Q.	*Secrétaire*
	M. COUSIN.	*Secrétaire*
M.	A. DROUILLY. O. Q.	*Secrétaire*
Mme	T. ROUVEURE.	*Secrétaire*
Mme	L. WARNESSON. Q.	*Secrétaire*

DOYEN HONORAIRE

M.	R. FABRE. C ※ C. Q.	*Membre de l'Institut*

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.	M. DELEPINE. C. ※. C. Q	*Membre de l'Institut*
	L. LAUNOY. O. ※. O. Q	
	P. FLEURY. O. ※. C. Q	
	M. PICON. O. ※. O. Q	
	C. BEDEL. ※. O. Q	
	R. FABRE. C. ※. C. Q	*Membre de l'Institut*

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

PROFESSEURS

MM.	M. M. JANOT. O . ✻ . C . Q	*Pharmacie galénique (T)*
	G. VALETTE. C . ✻ . C . Q Ord. Nat. du Mérite	*Pharmacodynamie (T)*
	R. PARIS. ✻ . C . Q	*Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T)*
	M. GUILLOT. ✻ . O . Q	*Physique (T)*
	J.A. GAUTIER. ✻ . O . Q	*Chimie organique (T)*
Mle	S. LAMBIN. ✻ . O . Q	*Microbiologie (T)*
MM.	Y. RAOUL. ✻ . O . Q	*Physiologie (T)*
	J. COURTOIS. ✻ . O . Q	*Chimie biologique (T)*
	L. DOMANGE. ✻ . C . Q	*Chimie minérale (T)*
	P. CRETE. ✻ . O . Q	*Botanique (T)*
	R. TRUHAUT. O . ✻ . O . Q	*Toxicologie et Hygiène industrielle (T)*
	A. MORETTE. ✻ . O . Q	*Hydrologie (T)*
	R. CAVIER. O . Q	*Parasitologie (T)*
	A. QUEVAUVILLER. ✻ . O . Q	*Hygiène et Education Sanitaire (T)*
	R. MOREAU. ✻ . O . Q	*Pharmacie chimique (T)*
	A. GERMAN. O . Q	*Virologie et Sérologie (T)*
	M. PIETTE. ✻ . O . Q	*Biologie sanguine (T)*
	P. MALANGEAU. O . Q	*Chimie analytique (T)*
	M. GIRARD. O . Q	*Biochimie appliquée (T)*
	G. DILLEMANN.....	*Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T)*
	G. DEYSSON. O . Q	*Cytologie végétale (T)*
	J. FLAHAUT. Q	*Minéralogie (T)*
	C. BOUDENE.....	*Toxicologie et Hygiène industrielle (T)*
	J. RENAULT. Q	*Chimie organique (T)*
	A. LE HIR.....	*Pharmacie galénique*
	P. LARUELLE.....	*Physique*
	P. ROSSIGNOL.....	*Pharmacodynamie*
	A. MANGEOT. O . Q	*Pharmacie galénique industrielle*
	P. DELAVEAU.....	*Matière médicale*
	Y. COHEN.....	*Sciences naturelles*
	H. RENAULT.....	*Physique*
M.	R. BOURDON.....	*Chimie analytique*
M.	P. REYNAUD.....	*Sciences Physico-chimiques*

MAITRES DE CONFERENCES

	G. LE MOAN.....	*Sciences appliquées*
	C. PAOLETTI.....	*Sciences appliquées*
	J. POISSON.....	*Sciences naturelles*
	A. DESVIGNES. ✪.....	*Cryptogamie et technique bactériologique*
	F. PERCHERON.....	*Sciences appliquées*
	J. SAVEL.....	*Biologie animale*
	J. BORY. ✪.....	*Sciences naturelles*
	M. MIOCQUE.....	*Chimie organique*
	J. L. GUIGNARD.....	*Botanique générale*
	J. C. GOUNELLE.....	*Sciences naturelles*
	P. BINET.....	*Biologie animale et Zoologie*
	C. COMBET-FARNOUX.....	*Chimie organique*
Mme	M. PLAT.....	*Sciences appliquées*
MM.	E. DELACOUX.....	*Sciences physico-Chimiques*
	J. DIDRY (F.F.).....	*Mathématiques appliquées aux Sciences expérimentales*

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

Mme	J. BLANC (F.F.).....	*Chimie analyses (1re A. N)*
MM.	A. CARLIER (F.F.).....	*C.E.S. Pharmacie galénique Industrielle*
	J. CHARLES (F.F.).....	*Mathématiques*
	C. DAGRON (F.F.).....	*Chimie préparation (1re A. N)*
Mle	M. T. DECAUDIN (F.F.).....	*Biologie animale (3e A.).*
M.	C. DREUX (F.F.).....	*C.E.S. Electrochimie appliquée à l'analyse*
Mle	G. DUMANT (F.F.).....	*Chimie préparations (1re A. N)*
MM.	P. GEORGES (F.F.).....	*C.E.S. Parasitologie*
	P. GESTEAU. ✲ . ○ . ✪.....	*C.E.S. Biochimie*
Mle	M. J. GOURSAT (F.F.).....	*Chaire de botanique*
MM.	H. GUERIN. ✲ . ○ . ✪.....	*Biologie végétale (3e A)*
	M. GUERNET.....	*Chimie (2e et 3e années)*
	M. HAMON. (F.F.).....	*Chimie analyses (1re A. N)*
	J. HARISPE. ✲ ○ . ✪.....	*Chimie préparations (1re A)*
	G. HAZEBROUCQ (F.F.).....	*Physique*

M.	J. HENRY.....	*Chimie (4e Année)*
Mme	J. HUBERT.....	*C.E.S. Bactériologie*
Mme	M. J. HURON (F.F.).....	*Mathématiques*
M.	Y. LAROCHE.....	*Chaire de Physique*
Mlle	Y. JUND.....	*C.E.S. Microbiologie*
M.	M. LEBOEUF (F.F.).....	*C.E.S. Pharmacotechnie*
Mme	N. LEGER (F.F.).....	*Zoologie*
M.	R. LELUC.....	*Microbiologie (4e A)*
M.	A. LEMONNIER.....	*Chimie analyses (2e et 3e A)*
Mme	S. LEMONTEY.....	*Chimie (4e A).*
Mlle	M. LONGEVIALLE (F.F.).....	*Chaire de botanique*
Mlle	S. LONGUEVALLE. O .Q	*Chimie examens*
MM.	J. MANDEREAU (F.F).....	*C.E.S. Pharmacotechnie*
	H. MARTIN FRERE (F.F.).....	*Chimie préparations (1re A)*
Mlle	H. MORIN. O .Q	*C.E.S. Pharmacodynamie*
M.	H. MOSKOWITZ, (F.F.).....	*Chimie analyses (1re A N.)*
Mme	M. J. NOTTEGHEN (F.F.).....	*Zoologie*
MM.	NGUYEN PHU LICH.....	*C.E.S. Toxicologie*
	M. PARIS (F.F.).....	*C.E.S. Analyse appliquée au contrôle des médicaments (Biologie)*
	R. PERLES.....	*C.E.S. Biochimie*
	J. PESTIS (F.F.).....	*Biologie animale (2e A)*
	P. POULLAIN.....	*C.E.S. Hématologie*
	J. RIVET (F.F.).....	*Chaire de Physique*
Mme	M. ROBERT.....	*C.E.S. Sérologie*
Mlle	A. ROLLEN. ✻ .O .Q	*Biologie végétale (2e A)*
Mme	N. SALES (F.F.).....	*Biologie animale*
Mlle	L. SEGUIN. O .Q (F.F.)	*C.E.S. Analyse appliquée au contrôle des médicaments (physico-chimie)*
Mme	M. SEILLER (F.F.).....	*Pharmacie galénique industrielle*
M.	J. YONGER (F.F.).....	*Chimie analyses (1re A)*

BIBLIOTHEQUE

Mlle	Y. RUYSSEN. ✻ . O . Q	*Conservateur, chargée de la direction*
Mlle	S. LAVAUD. ✻ . O . Q	*Conservateur*
Mme	G. KREHMER. O . Q	*Conservateur*
Mme	A. DESGRIPPES. O . Q	*Bibliothécaire*

A mes Parents,

A mes Filles,

A mon Mari,

sans qui ce travail n'aurait
jamais vu le jour.

En témoignage de mon affection.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546825_0067

A Monsieur le Professeur R. CAVIER

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien des Hôpitaux

qui après avoir dirigé mes recherches, a bien voulu accepter la présidence de cette thèse.

En témoignage de ma très sincère reconnaissance et de mon profond attachement.

A Monsieur le Professeur J. SAVEL

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris

Chef de Laboratoire des Hôpitaux de Paris.

qui est pour moi un Maître et un ami.

Qu'il veuille bien accepter ce témoignage de mon respect et de ma gratitude.

A Monsieur le Professeur A. GERMAN

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Pharmacien des Hôpitaux de Paris,

qui a bien voulu accepter de
juger ce travail.

En témoignage de vive gratitude.

A mes Maîtres dans les Hôpitaux :

Monsieur le Professeur J.A. GAUTIER

Monsieur le Professeur J. COURTOIS

Monsieur le Professeur M. BAILLY

auprès de qui j'ai appris mon métier.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

INTRODUCTION

Hymenolepis nana, variété fraterna est un Cestode parasite des Rongeurs qui a depuis longtemps suscité de nombreux travaux.

Il doit cette attention particulière, d'une part à sa parenté avec les Cestodes parasites de l'intestin de l'Homme, d'autre part à sa facilité d'élevage qui en fait le sujet idéal pour l'essai pharmacodynamique des substances ténifuges.

Dans le laboratoire de Monsieur le Professeur CAVIER, ce parasite est fréquemment utilisé pour de telles études, et c'est tout naturellement que nous avons été amenée à entreprendre à son propos des recherches destinées à revoir et préciser certains points de sa biologie afin de mieux analyser et comprendre ses réactions aux anthelminthiques. En effet, l'efficacité des ténifuges n'est pas absolue et de nombreux travaux restent encore à entreprendre, en particulier sur leur mode d'action.

A leur origine, le but de notre travail était en fait de dégager les règles qui doivent diriger l'utilisation d'Hymenolepis nana variété fraterna en pharmacodynamie.

Dans un premier temps, nous nous sommes attachée à l'étude du parasite à travers les diverses phases de son développement. Chemin faisant, de nouveaux problèmes surgissaient, des questions se posaient à nous : quels étaient les facteurs qui conditionnaient son évolution ? Comment ses hôtes réagissaient-ils en sa présence ? Comment lui-même réagissait-il à ses hôtes et aux drogues réputées ténécides aux différentes phases de son cycle ? C'est ainsi que nous fûmes parfois entraînée très loin de notre but initial.

L'exposé de nos travaux comportera trois parties :

La première sera consacrée à des données systématiques, à la description morphologique du parasite et à une revue historique rapide des travaux qu'il a suscités.

Dans la deuxième partie, l'étude du cycle évolutif dont le déroulement pose de nombreux problèmes, sera exposée. C'est à certains d'entre eux que nous avons essayé d'apporter une solution.

Enfin, la troisième partie sera consacrée à une étude des ténicides et particulièrement à la question de l'action de ces drogues sur les formes immatures du parasite.

Ce travail a été effectué dans le Laboratoire du Professeur CAVIER, qui, après nous avoir accueillie comme interne dans son service hospitalier, nous témoigna sa confiance et son estime en nous offrant un poste d'assistante à la Faculté.

Depuis il n'a cessé de nous guider et de nous aider dans nos recherches. C'est toujours avec bienveillance qu'il nous accueillait dans les jours de découragement comme dans les moments d'enthousiasme, sachant trouver alors les mots pour nous remettre dans la bonne voie ou pour nous encourager à persévérer. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous sommes heureuse de remercier le Professeur GERMAIN qui nous a fait l'honneur de bien vouloir juger ce travail.

Monsieur le Professeur SAVEL fut lui aussi notre Maître. Notre dette envers lui est grande. Il nous a accueillie aux Travaux Pratiques de Parasitologie dont il était alors le Chef. C'est à lui que nous devons tout ce que nous y avons appris de notre métier. Plus tard, il nous hébergea dans son laboratoire. C'est vers lui que nous nous tournions chaque fois que nous avions besoin d'un conseil et sa grande érudition nous fut souvent précieuse. Nous sommes heureuse de pouvoir le remercier aujourd'hui et de l'assurer de notre plus complet dévouement.

oOo

P L A N

I - DESCRIPTION ET HISTORIQUE DES TRAVAUX EFFECTUES SUR HYMENOLEPIS NANA var Fraterna

1 - Place d'Hymenolepis nana variété fraterna en systématique.

2 - Description du parasite adulte.

3 - Problème de l'identité avec le parasite humain.

4 - Utilisation d'Hymenolepis nana en parasitologie expérimentale

A - Etude du cycle
B - Travaux d'immunologie parasitaire.

II - ETUDE DU CYCLE : TRAVAUX PERSONNELS

1 - Rappel du cycle

2 - Le cysticercoïde chez l'insecte :

A - Les hôtes intermédiaires habituels
B - Le développement et la mise en évidence du cysticercoïde
C - Infestation expérimentale d'autres insectes.
D - Essais de culture in vitro.
E - La destinée du cysticercoïde

3 - Hymenolepis nana chez les rongeurs :

A - L'hôte et les méthodes d'infestation.
B - Le cysticercoïde : développement et mise en évidence.
C - L'adulte.

III - HYMENOLEPIS NANA variété FRATERNA ET LES "TENICIDES"

1 - Utilisation du parasite en pharmacodynamie

2 - Action des ténicides sur le parasite.

A - Action sur l'oeuf
B - Action sur le cysticercoïde chez la souris
C - Action sur le cysticercoïde chez l'insecte :
. in vitro,
. in vivo
D - Action sur le cestode adulte in vivo.

a) - Mode d'action
b) - Influence de l'âge de l'infestation.

oOo

PREMIERE PARTIE

DESCRIPTION & HISTORIQUE.

I - PLACE D'HYMENOLEPIS NANA VAR. FRATERNA EN SYSTEMATIQUE.

Hymenolepis nana var. fraterna Stiles 1906 appartient à la famille des Hymenolepididés. Celle-ci est une des six familles qui constituent l'Ordre des Cyclophyllidés, un des huit ordres que compte la classe des Cestodes.

Les Turbellariés, les Cestodaires, les Monogènes, les Cestodes et les Trématodes sont rassemblés dans le même embranchement des Plathelminthes.

Voici, sous forme de tableau, la position systématique d'Hymenolepis nana variété fraterna.

Voir Tableau I - Classification des Plathelminthes.

oooooo

TABLEAU I

EMBRANCHEMENT DES PLATHELMINTHES

CLASSE DES TURBELLARIES

CLASSE DES CESTODAIRES

CLASSE DES MONOGENES

CLASSE DES CESTODES

Ordre des Cyclophyllidés :

- Famille des Mésocestoïdidés
- Famille des Anoplocéphalidés.
- Famille des Dilépididés.
- Famille des Hymenolépididés.

S/famille des Hymenolépididés : Hymenolepis nana variété fraterna.

S/famille des Fimbriariinés.

- Famille des Davainéidés.
- Famille des Taeniidés.

Ordre des Tétrabothridés

Ordre des Ichtyotaenidés

Ordre des Nippotaenidés

Ordre des Tétraphyllidés

Ordre des Tétrarhynchidés

Ordre des Pseudophyllidés

CLASSE DES TREMATODES

ooo

2 - DESCRIPTION .

Tandis qu'Hymenolepis nana, parasite de l'Homme, était décrit en 1852, par Von SIEBOLD (108), la variété murine fut d'abord décrite en 1845 par DUJARDIN (33) sous le nom de Taenia murina, puis en 1906 par STILES qui, considérant le parasite des Rongeurs comme une variété de celui de l'Homme, lui donna le nom d'Hymenolepis nana variété fraterna.

On trouve une étude détaillée de sa morphologie dans la thèse de JOYEUX (59).

C'est un petit Cestode, parasite à l'état adulte de l'intestin grêle de divers rongeurs et particulièrement du Rat et de la Souris. A maturité, il mesure en moyenne 60 mm de long, mais sa taille varie dans de très larges limites autour de cette valeur et elle peut atteindre 80 mm. Sa largeur maximum varie de 270 à 800 µ.

Le scolex mesure de 150 à 400 µ et son diamètre diffère selon que le rostre est invaginé à l'intérieur ou qu'il est en extension. Il porte 4 ventouses arrondies de 80 µ de diamètre environ et une seule couronne de 20 à 27 crochets.

Le cou qui fait suite est deux fois plus étroit que le scolex.

Le strobile est formé de proglottis très nombreux, de l'ordre d'une centaine, d'abord courts, puis grandissant graduellement à mesure qu'ils s'éloignent du scolex, tout en restant toujours plus larges que longs. Tous ces anneaux ont leurs angles postérieurs saillants, aigus, en dents de scie (Von SIEBOLD (108), DUJARDIN (33), et portent chacun un orifice génital, en position latérale, et situé toujours du même côté, d'un anneau à l'autre. Les premiers anneaux très courts ne présentent pas d'organes génitaux visibles; les suivants, un peu plus grands, contiennent des organes génitaux mâles à maturité (protérandrie). Ceux-ci sont formés de trois testicules de forme globulaire, deux à droite et un à gauche, l'élément interne de la paire de droite étant parfois plus petit que les deux autres. Il est souvent difficile de les individualiser et on ne

voit alors qu'une masse à la partie postérieure de l'anneau.

Enfin, dans les anneaux chez lesquels le tractus femelle se développe, on distingue également :

- une poche de cirre,
- un receptacle séminal formé par un renflement du vagin,
- un ovaire et un vitellogène.

Les anneaux murs, à l'extrémité postérieure de la chaîne, apparaissent bourrés d'oeufs.

Sur toute la longueur du corps, de chaque côté, courent deux canaux excréteurs bien visibles présentant un aspect légèrement ondulé. Tant que l'helminthe n'a pas atteint sa maturité, c'est-à-dire tant que ses anneaux n'ont pas commencé à se détacher du corps, au niveau du dernier anneau, effilé à son extrémité, les deux canaux se rejoignent sur la ligne médiane où ils s'ouvrent par un pore excréteur unique. Au contraire, lorsque le dernier anneau s'est déjà détaché, ce tronc commun disparaît et les deux canaux s'ouvrent indépendamment l'un de l'autre de chaque côté du corps. Ce fait d'observation permet d'apprécier facilement si le parasite est sexuellement mûr.

Les oeufs, ovoïdes, mesurent environ 50 μ de long sur 40 μ de large. Ils contiennent un embryon hexacanthe pourvu d'une enveloppe propre, entourée elle-même d'une double membrane dont les deux feuillets sont séparés par une zone gélatineuse épaisse. Le feuillet interne est renflé aux deux pôles en deux petits mamelons d'où partent des filaments ondulés qui s'étendent au sein de la zone gélatineuse médiane d'aspect hyalin.

ooooo

PLANCHE I

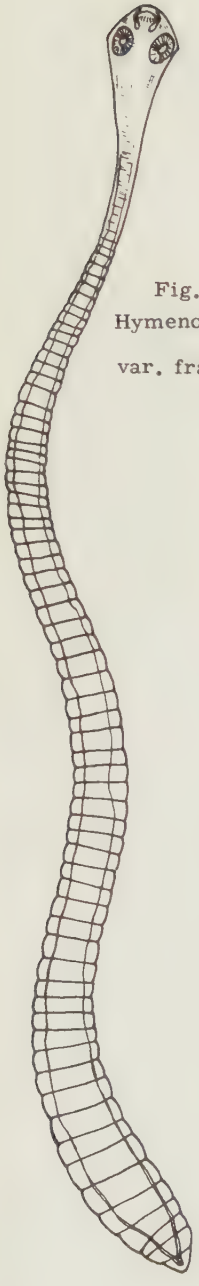


Fig. 1 - Hymenolepis nana var. fraterna

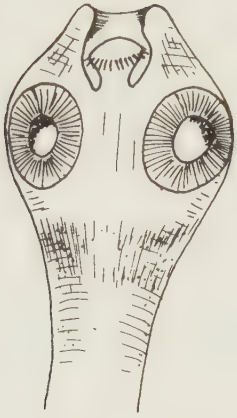


Fig. 2 - Scolex avec rostre invaginé

Fig. 3 - Extrémité postérieure d'un ver immature

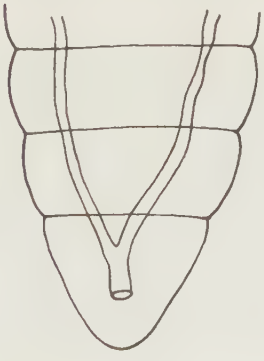
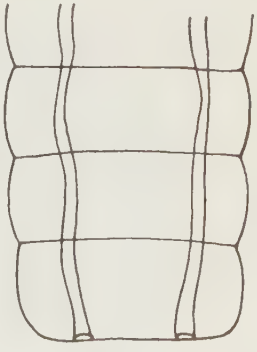


Fig. 4 - Extrémité postérieure d'un ver à maturité sexuelle et ayant déjà perdu une partie de ses proglottis.



3 - PROBLEME DE L'IDENTITE DE L'HYMENOLEPIS NANA DE L'HOMME ET DE L'HYMENOLEPIS NANA VARIETE FRATERNA DES RONGEURS.

L'espèce Hymenolepis nana comporte en fait deux variétés : Hymenolepis nana (s.s.), parasite de l'Homme, et Hymenolepis nana variété fraterna, parasite des Rongeurs.

Chez l'Homme, Hymenolepis nana se rencontre un peu partout dans le monde avec toutefois des fréquences très variables d'un pays à l'autre. Il parasite surtout les enfants et se localise dans la partie terminale de l'iléon.

Dès 1912, JOYEUX (57) posait le problème de l'identité de ce parasite avec celui des Rongeurs.

Du point de vue morphologique, il n'existe pas de différence entre les deux parasites.

Il est difficile, en raison de phénomènes d'immunité, que nous envisagerons plus tard, d'infester des rongeurs âgés. De même chez l'Homme, le parasite se rencontre principalement chez l'enfant.

La localisation des deux parasites est identique et l'un et l'autre vivent dans les dernières portions du grêle. Quant à leur pouvoir pathogène, on peut le considérer comme comparable; en effet, bien que l'Hymenolepis nana de la Souris, parasite très répandu dans les élevages, soit réputé inoffensif, nous avons pu constater à maintes reprises que les lots d'animaux très fortement infestés présentaient une mortalité assez importante et que les survivants avaient un aspect maladif contrastant avec celui des souris témoins. Or, le rôle pathogène de la souche humaine n'est pas à négliger, surtout lorsque les parasites se trouvent, comme c'est souvent le cas, en grand nombre.

JOYEUX et FOLEY (62), étaient partisans de la dualité du parasite; car, essayant d'infester des rongeurs avec des oeufs pro-

venant de l'Hymenolepis nana de l'Homme, ils échouèrent constamment. Ils distinguaient alors deux espèces différentes : L'Hymenolepis nana de l'Homme et l'Hymenolepis nana var. fraterna des Rongeurs.

Cependant, SAEKI (98 - 99), UCHIMURA (120), WOOLAND (137) et plus récemment, BADALYAN (5), en U.R.S.S., réussirent difficilement il est vrai, surtout pour les premiers auteurs, à infester des rongeurs avec des oeufs de la souche humaine.

De son côté, KIRIBAYASHI (65) arrivait à infester l'Homme, avec des oeufs provenant de l'Hymenolepis nana du Rat, directement sans faire intervenir d'hôte intermédiaire.

Enfin, SIMITCH, NEVENITCH et PETROVITCH (111) travaillant sur Citellus citellus, notaient que cet animal était également réceptif à Hymenolepis nana de l'Homme et à Hymenolepis nana var. fraterna et ils en concluaient à l'identité biologique des deux espèces.

Il faut observer que la répartition géographique des deux parasites apporte des arguments en faveur de la théorie dualistique : Hymenolepis nana var. fraterna est un parasite tout a fait cosmopolite alors que Hymenolepis nana de l'Homme se rencontre essentiellement dans les pays chauds (Amérique du Sud, Europe méridionale, Région méditéranéenne), et il est rare dans les pays froids.

Le problème est donc loin d'être résolu et la question reste posée. S'agit-il du même parasite ou de deux espèces différentes ? ou de deux variétés biologiques différentes, l'espèce humaine dérivant d'une souche murine qui se serait secondairement adaptée à l'Homme ? C'est là une question qui intéresse le pharmacologue, qui sans cesse, se heurte à la difficulté du passage de l'animal d'expérience à l'Homme. Si les deux espèces d'Hymenolepis n'en font qu'une, il aurait pour une fois la chance de pouvoir travailler sur un parasite de l'Homme, possibilité exceptionnelle en parasitologie où souvent la spécificité est si grande que le paléontologiste a pu parfois utiliser le parasite pour identifier l'hôte.

Quoiqu'il en soit, dans la suite de cet exposé, nous utiliserons la dénomination que STILES (116) donna en 1906 au parasite et qui est le plus généralement employée : Hymenolepis nana variété fraterna. Chaque fois que cela ne nuira pas à la clarté de l'exposé, nous nous contenterons de l'appeler Hymenolepis nana, étant bien entendu qu'il s'agira alors de l'espèce murine.

oooooo

4 - UTILISATION D'HYMENOLEPIS NANA VAR. FRATERNA EN PARASITOLOGIE EXPERIMENTALE.

Hymenolepis nana var. fraterna a suscité un grand nombre de travaux, c'est vraiment l'espèce de choix pour l'étude des Cestodes. Les hôtes de ce parasite sont de petits rongeurs (souris et rats principalement) qui représentent pour le laboratoire le matériel le plus facile à élever et à manipuler.

HISTORIQUE DES TRAVAUX EXPERIMENTAUX EFFECTUES SUR HYMENOLEPIS NANA variété FRATERNA

A - ETUDE DU CYCLE

Depuis longtemps, les chercheurs ont étudié de façon très minutieuse le cycle de développement d'Hymenolepis nana variété fraterna.

En 1892, GRASSI (38 - 39) démontre l'existence d'un stade cysticercoïde à l'intérieur des villosités intestinales : il fait ingérer des oeufs mûrs à des rats. 25 à 50 heures plus tard, examinant l'intestin des rongeurs, il y trouve des embryons hexacanthes libérés de leurs enveloppes, enfouis dans la muqueuse, à la base de villosités qui sont notablement augmentées de volume. La queue commence à apparaître de la 40ème à la 70ème heure, puis le rostre et les ventouses se forment.

Au bout de 3 à 4 jours, le cysticercoïde est complètement développé; il suffit alors au scolex de pénétrer dans la lumière de l'intestin par rupture de la villosité et le cou commence à grandir.

En 1920, dans sa thèse "Cycle évolutif de quelques Cestodes" (59), JOYEUX fait le point sur la question et apporte sa contribution à l'étude du cycle d'Hymenolepis nana variété fraterna. Il décrit minutieusement les méthodes expérimentales qu'il emploie tant chez

l'hôte définitif que chez les hôtes intermédiaires éventuels, observe l'évagination du scolex in vitro, précise les conditions d'infestation.

C'est BACIGALUPO (3) qui, un peu plus tard, démontre la possibilité d'un second cycle évolutif avec intervention de divers insectes comme hôtes vecteurs.

A sa suite, divers auteurs, essayant de reproduire ses expériences, le font avec un succès très variable jusqu'à ce que l'on découvrit le rôle déterminant de la température sur le développement du cysticercoïde chez l'insecte.

En 1959, SCHILLER (102) étudie le développement et la morphologie du cysticercoïde chez un des hôtes intermédiaires possibles : Tribolium confusum, et cette étude est reprise et précisée un peu plus tard par VOGE et ses collaborateurs.

B - TRAVAUX D'IMMUNOLOGIE PARASITAIRE

Déjà JOYEUX (59) avait signalé la possibilité de réactions immunitaires chez l'hôte. Il constatait que la période la plus favorable pour l'infestation se situait entre la 6ème et la 8ème semaine suivant le sevrage et que, chez les rongeurs adultes les helminthes disparaissaient alors que l'immunité persistait.

Au contraire, en 1933 SHORB (107) pensait qu'il y avait possibilité de réinfestation chez des animaux déjà parasités bien que la résistance augmentat avec l'âge. Il observait une résistance accrue à l'infection, après une première atteinte, chez les souris maintenues à la diète, mais, paradoxalement, il observait l'inverse chez le rat.

Pour expliquer cette apparition d'une résistance chez des animaux âgés, diverses théories furent avancées :

HUNNINEN (54) notait fort justement, que l'apparition de cette immunité semblait liée au fait qu'il existait, au cours du cycle de ce parasite, une phase intra-tissulaire correspondant à la période où le cysticercoïde se trouve dans les villosités intestinales. Quant à la résistance des animaux très jeunes et indemnes de contamination antérieure, il l'attribuait aux conditions mécaniques défavorables rencontrées par le parasite : intestin trop court, villosités trop petites.

LARSH (68) et READ (84) l'attribuaient, eux, à une trop grande rapidité du transit chez les jeunes animaux.

En 1941, HEARIN (44) reprenait l'étude de l'immunité acquise à Hymenolepis nana chez la souris. Il observait que la durée de cette

immunité est très longue (au moins 102 jours) et qu'elle débute dès la 12ème heure après l'infestation. L'introduction d'adultes vivants dans la lumière intestinale ou dans la cavité générale de l'hôte est impuissante à créer l'immunité. En revanche, il existe une possibilité de transfert passif d'immunité par injection de sérum provenant de souris infectées à des souris indemnes.

Il en concluait à la présence d'anticorps dans le sérum des animaux parasités, anticorps dont la formation serait liée au stade intra-tissulaire des cysticercoïdes au sein des villosités.

A son tour, en 1942, LARSH (65) note que les souris nées de mères infestées présentent une immunité beaucoup plus grande que celles nées de mères indemnes, et il observe que la durée de cette résistance est de 37 à 41 jours. Il attribue alors cette immunité au passage, in utero, des anticorps de la mère aux foetus, anticorps qui disparaitraient 8 à 9 jours après la naissance, et de la mère au nouveau-né par le lait, ce mode de transmission assurant une protection meilleure et plus durable. Il parvient à obtenir une certaine immunité transmissible de la mère aux souriceaux en employant un antigène préparé à partir de vers adultes broyés et attribue l'échec de HEARIN (44) au fait que celui-ci s'adressait à des implants de vers adultes vivants.

Il arrive enfin à infester des souris âgées (5 mois) et exposées auparavant à l'infestation, en les splénectomisant.

De même, ROMAN (93 - 94) arrive à fléchir la résistance aux surinfestations au moyen d'injections de cortisone.

Dès lors, tous les chercheurs essayent de mettre en évidence le support de l'immunité.

HEYNEMAN et WELSH (48) préparent un sérum de lapin anti-hymenolepis par injection intra-veineuse d'un antigène obtenu à partir d'un broyat d'adultes et observe l'effet de ce sérum in vitro sur des oeufs et des cysticercoïdes et sur des adultes; les premiers voient leur pouvoir infectieux diminuer et les seconds meurent et présentent des précipités à la surface du corps.

D'autre part, HEYNEMAN (47) démontre définitivement la nécessité du stade cysticercoïde pour l'établissement de l'immunité. Des souris infestées par des cysticercoïdes provenant d'un insecte, Tribolium confusum (cycle indirect), ne présentent pas de résistance lors d'une seconde infestation par des oeufs ou par des cysticercoïdes. De même, des souris infestées par Hymenolepis diminuta, qui ne présente jamais de stade intra-tissulaire, peuvent être surinfestées par des oeufs d'Hymenolepis nana alors que l'inverse n'est pas possible, les deux parasites présentant des réactions d'immunité croisée (HEYNEMAN - 45).

Tout récemment, PAUTRIZEL et BAILENGER (7 - 8) reprennent cette étude; ils observent chez la Souris infestée une courbe d'éosinophilie classique en "coup d'archet" avec un maximum au 20ème jour avant l'élimination des oeufs et un second trois semaines plus tard. Ils préparèrent un antigène avec lequel ils obtiennent une immunité faible mais certains; ils échouent dans toutes leurs tentatives de mise en évidence d'anticorps sériques par les méthodes classiques de fixation du complément et de séro-protection.

En revanche, M. COLEMAN et LAURETTA de SA (27), implantant des adultes dans l'iléon de la Souris non immune, arrivent à détecter des anticorps sériques dirigés contre les vers adultes et à les titrer par la méthode indirecte d'hémo-agglutination.

En conclusion, il existe des réactions immunologiques certaines et la plupart des auteurs, à l'exception de la dernière observation, admettent que l'établissement de cette immunité est lié à l'existence d'un stade tissulaire dans le cycle direct du parasite.

A l'heure actuelle, le support de cette immunité est encore mal connu et le problème se pose de savoir s'il s'agit uniquement d'une immunité sérique de type antigène-anticorps.

oOo

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DU CYCLE

I - RAPPEL DU CYCLE

A partir de l'oeuf éliminé dans les matières fécales des rongeurs parasités, le développement de l'embryon hexacanthe peut suivre deux voies - soit une voie directe à un seul hôte (monoxène). Dans ce cas l'oeuf ingéré par le Rongeur libère l'embryon hexacanthe dans l'intestin grêle. Cet embryon va se loger à l'intérieur des villosités où il se transforme en cysticercoïde. Une fois mûr, ce dernier tombe dans la lumière intestinale et se transforme en adulte.

- soit une voie indirecte à deux hôtes (hétéroxène) le cysticercercoïde se développe chez un Insecte. C'est en ingérant celui-ci que le Rongeur se contamine. Le cysticercoïde est alors libéré et se fixe dans la lumière intestinale où il se transforme en adulte.

Enfin, pour certains auteurs, le Rongeur pourrait également jouer le rôle d'hôte intermédiaire. SUSLOV (117) signale la présence constante de cysticercoïdes dans les nodules lymphatiques du mésentère de la Souris infestée expérimentalement, et GARKAVI (36) a réussi à infester des souris en les nourrissant avec des ganglions mésentériques d'animaux parasités.

L'existence de ce double cycle place en quelque sorte Hymenolepis nana à un carrefour de la parasitologie. Lorsque l'on envisage leur cycle, les parasites peuvent se classer en deux groupes : ceux qui effectuent leur développement chez un seul hôte avec existence d'une phase libre qui conditionne leur dispersion, et ceux qui nécessitent pour se développer plusieurs hôtes successifs. Les premiers peuvent être considérés comme plus étroitement spécifiques, mieux adaptés, en un mot comme plus évolués puisque, ne nécessitant plus qu'un seul hôte, ils voient ainsi les aléas de leur croissance se réduire au minimum ; ce mode direct de développement assure à l'espèce une chance maximum de continuité. La plupart des Cestodes sont des parasites polyxènes. N'assistons-nous donc pas, ici, avec Hymenolepis nana, à un tournant de l'évolution des Cestodes avec tendance au passage à des formes monoxènes ?

2 - LE CYSTICERCOIDE SUR L'INSECTE.

A - LES HOTES INTERMEDIAIRES

Les hotes intermédiaires sont des Insectes.

GRASSI (38) pensait que, seul, le cycle direct existait. JOYEUX (58) évoquait déjà sans rien affirmer, la possibilité d'un cycle indirect avec développement du cysticercoïde dans la cavité générale des puces du Rat : Xenopsylla cheopis et Nosopsyllus fasciatus. Cependant, tous ses essais pour infecter divers Arthropodes larvaires et adultes ont échoué. C'est BACIGALUPO (1 - 3) à Buenos Aires, qui parvint, pour la première fois, à infester expérimentalement Tenebrio obscurus et Tenebrio molitor, ainsi que diverses espèces de puces : Xenopsylla cheopis, Ctenocephalides canis et Pulex irritans. BRUMPT (15), essayant à son tour de parasiter Tenebrio molitor à Paris n'obtint que deux succès sur un lot de 20 insectes : nous verrons plus loin la raison de cet échec.

Les vecteurs usuels actuellement connus appartiennent à deux ordres :

- parmi les Coléoptères : Tribolium confusum, Tenebrio molitor, Tenebrio obscurus,

- parmi les Aphaniptères : Pulex irritans, Ctenocephalides canis, Nosopsyllus fasciatus et Xenopsylla cheopis.

Pour nos travaux sur le cysticercoïdes de l'Insecte, nous avons généralement retenu Tenebrio molitor comme hôte vecteur.

Les élevages de ces insectes sont faciles à obtenir. Il suffit de les conserver dans un mélange à parties égales de son et de farine. On se procure aisément les quelques larves de départ chez les marchands d'oiseaux. Il est inutile de recouvrir le bac qui contient l'élevage : les ténébrions sont des insectes peu agiles et ils

LES DEUX CYCLES D'HYMENOLEPIS NANA var. FRATERNA

SOURIS

TENEBRIO MOLITOR

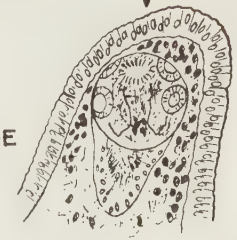
OEUF

EMBRYON HEXACANTHE

CYCLE DIRECT à un seul hôte

CYCLE INDIRECT à deux hôtes

VER ADULTE DANS LA LUMIÈRE INTESTINALE



CYSTICERCOÏDE DANS UNE VILLOSITÉ INTESTINALE

CYSTICERCOÏDE DANS LA CAVITÉ GÉNÉRALE

PLANCHE II

Pour ces auteurs, la température la plus favorable est de 30°. C'est cette température que VOGE et HEYNEMAN (129) adoptèrent lorsque, plus tard, ils travaillèrent sur Hymenolepis nana chez Tenebrio molitor.

SCHILLER (102) lors de ses expériences sur Tribolium confusum, estime à 28° la température optimum d'infestation. En ce qui nous concerne, nous avons obtenu constamment un fort pourcentage d'infestation (80 à 100 p. 100) en opérant à 30°, température très bien supportée par les ténébrions en atmosphère humide.

oOo

B - LE CYSTICERCOIDE

a) - Son développement chez l'insecte

SCHILLER (102) décrit ainsi les premiers stades du développement dans le tube digestif de Tribolium confusum : l'oeuf, ingéré par l'insecte, se gonfle ; la membrane externe devient plus mince et un espace se développe entre l'embryophore et la coque externe. Puis, l'embryophore qui jusqu'ici était intimement appliqué contre la surface de l'oncosphère, s'en écarte et vient s'appliquer contre la coque externe. Celle-ci se rompt et l'embryophore s'introduit dans l'ouverture en emportant l'oncosphère avec lui. Sa libération suit presque aussitôt et il semble que le rôle des crochets, que l'embryon actionne alors très vigoureusement, soit déterminant.

Douze heures après le repas infestant, on peut observer quelques embryons dans l'épaisseur de la paroi intestinale; le mécanisme de ce passage n'a pas encore été élucidé on ne sait pas encore s'il s'agit d'un processus mécanique dû à l'action des crochets ou d'un processus protéolytique ou cytolytique provoqué par la sécrétion d'un enzyme par l'embryon (OGREN - 77, REID - 89-90, SILVERMAN et MANEELY - 110).

VOGE et HEYNEMAN (128) distinguent 5 stades dans le développement ultérieur de la larve :

- Premier stade : 12 à 48 heures après l'infestation.

Le parasite se trouve déjà dans la cavité générale de l'insecte. Les enveloppes de l'oeuf ont disparu. L'embryon est immobile, et, tout en ayant déjà augmenté de taille, il possède encore l'apparence générale d'un embryon hexacanthe. Il a un corps sphérique de 70 μ environ de diamètre. On n'y observe aucune structure différenciée. Les trois paires de crochets de l'oncosphère se trouvent à la périphérie, situées toutes trois dans la même moitié de la sphère. Alors que les deux crochets du milieu sont séparés, ceux des paires latérales sont encore réunis à leur base.

- Deuxième stade : 48 à 72 heures après l'infestation

La taille de l'embryon augmente : à la 72ème heure, il mesure environ 100 μ. On observe une ébauche de cavité à la base des cro-

chets latéraux et une prolifération cellulaire rapide dans la zone de formation du futur scolex. Les crochets se dispersent à l'extrémité postérieure. Après la 60ème heure, on observe un début de dépôt granuleux dans la partie immédiatement antérieure à la cavité.

- Troisième stade : 72 à 96 heures après l'infestation

L'extrémité antérieure s'allonge et le corps de la larve se divise nettement en deux parties :

- une partie antérieure correspondant au futur scolex,

- une partie postérieure correspondant au corps et la queue de l'embryon.

A ce stade, on observe déjà, au centre du futur scolex, une ébauche de rostellum. La cavité du corps s'allonge.

- Quatrième stade : 92 à 120 heures après l'infestation

Le scolex s'invagine dans la cavité du corps en ménageant, à la partie antérieure une petite ouverture. Aussitôt après, les ventouses deviennent nettement visibles. Vers la 100ème heure, à la base du rostellum, apparaît la première ébauche de crochets. A partir de ce moment, la queue se développe. C'est une structure très fragile sur laquelle persistent parfois, répartis sans ordre, les crochets de l'oncosphère.

- Cinquième stade : 100 à 140 heures après l'infestation

C'est le stade de maturation.

La musculature des ventouses se différencie. Rostellum et crochets sont bien formés. Une couche épaisse, fibreuse, se développe sous la membrane externe de la cavité du corps, isolant nettement cette partie de la queue au niveau de laquelle on ne retrouve pas cette formation.

C'est vers la 120ème heure que le cysticercoïde devient infestant pour la Souris.

b) - Description du cysticercoïde à maturité

A maturité, le cysticercoïde est formé de deux parties distinctes :

1 - Le corps, sphérique, enfermé dans une capsule présentant, une petite ouverture à la partie antérieure et comprenant, de l'extérieur vers l'intérieur :

PLANCHE III

Quelques stades du développement d'Hymenolepis nana dans la cavité générale de Tenebrio molitor.

Fig. 1 - Cysticercoïde de 24 heures (d'après Schiller)

Fig. 2 - Cysticercoïde de 72 heures (d'après Schiller)

Fig. 3 - Cysticercoïde de 96 heures (d'après Schiller)

Fig. 4 - Cysticercoïde à maturité.

. la membrane externe,

. la couche fibreuse épaisse et de coloration jaunâtre,

. la membrane interne de même structure histologique que le scolex avec lequel elle se trouve en continuité.

A l'intérieur de cette capsule se trouve invaginé le scolex dans lequel on distingue nettement :

. le rostellum portant une couronne de 21 à 27 crochets

. les quatre ventouses musculeuses.

. les canaux excréteurs qui se continuent dans l'épaisseur de la membrane interne de la capsule,

. de grosses granulations, surtout abondantes à la partie postérieure.

2 - La queue grande, sphérique ou cordiforme, très fragile. On y distingue une couche externe nette, formée d'une cuticule doublée intérieurement d'une rangée de cellules qui se continuent vers l'intérieur par des travées d'allure mésenchymateuse. Cette queue croît tant que le scolex reste vivant et sa longueur est proportionnelle à l'âge du cyrticercoïde.

Quelquefois, les crochets de l'embryon hexacanthe sont encore visibles à la partie postérieure, mais très souvent la larve les perd rapidement au cours de sa croissance.

c) - Localisation des cysticercoïdes chez l'insecte

Chez le Ténébrion les cysticercoïdes sont souvent très abondants : il nous est arrivé d'en compter jusqu'à 572 chez un même individu. Leur nombre est d'ailleurs très variable d'un insecte à l'autre, même au cours d'une même infestation. On les trouve dans la cavité générale et particulièrement autour du tube digestif et des tubes de Malpighi.

Beaucoup plus rarement, ils peuvent venir se loger dans les muscles thoraciques.

d) - Mise en évidence des cysticercoïdes

On peut les mettre en évidence soit par dissection, soit par la méthode histologique

1 - Mise en évidence par dissection

Il suffit de dilacérer l'insecte à l'aide de deux pinces fines dans une boite de Pétri contenant un peu de soluté isotonique de chlorure

de sodium. Les cysticercoïdes, dont la densité est élevée, sédimentent immédiatement. Ils sont nettement visibles sur le fond de la boite, à la loupe binoculaire, surtout à partir du 4è jour lorsque l'invagination a eu lieu. Pour étudier leur morphologie, on les prélève à l'aide d'une pipette Pasteur montée avec un tube de caoutchouc et un embout buccal et on les examine au microscope entre lame et lamelle.

Nous avons également essayé la fixation dans le formol et la coloration par le carmin chlorhydrique. De même que VOGE et HEYNEMAN (128) le signalent, ces préparations ne nous ont jamais donné d'aussi bons résultats que l'examen à l'état frais, comme on pourra l'observer sur les photographies.

2 - Mise en évidence par la méthode histologique

Les techniques histologiques applicables aux insectes présentent certaines particularités du fait que le revêtement chitineux est un obstacle à la bonne pénétration des fixateurs et des produits utilisés pour l'inclusion; il est également difficile d'éliminer l'air retenu dans les trachées.

Les insectes sont amputés des ailes et des pattes, et, à l'aide d'une épingle, on pratique de petits trous dans la cuticule afin de faciliter la pénétration du fixateur.

Après avoir essayé divers procédés, nous nous sommes arrêtée au mode opératoire suivant :

- la fixation s'effectue dans le liquide de Duboscq et Brazil choisi en raison de son grand pouvoir pénétrant, pendant 8 jours et sous vide, de façon à éliminer l'air contenu dans les trachées.

On procède ensuite à une déshydratation, également sous vide, dans deux bains successifs d'alcool absolu, suivie de trois séjours d'une semaine dans un bain d'alcool butylique.

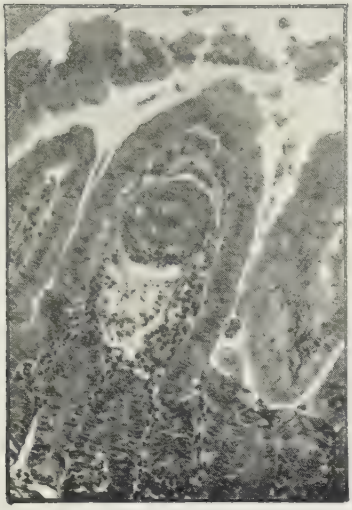
L'inclusion est faite à la celloïdine-paraffine et les coupes sont colorées à l'hémalun-éosine.

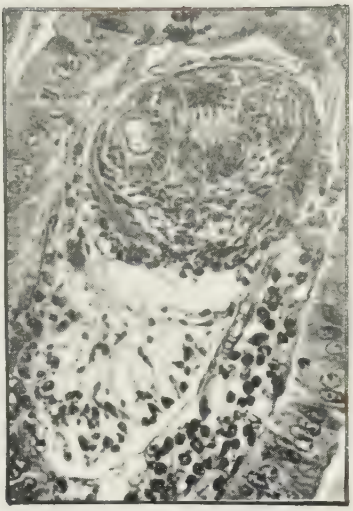
Les cysticercoïdes sont très aisément repérables au sein des tissus grâce à la présence des crochets.

e) - Aspect histologique des cysticercoïdes

Lorsque la coupe est pratiquée au niveau du scolex de la larve, on observe de l'extérieur vers l'intérieur :

- la membrane externe, de structure cellulaire, comprenant une couche unique et régulière de noyaux,





Photos 1 et 2 - Cysticercoïde d'Hymenolepis nana dans une villosité intestinale de l'intestin de la Souris (Coupe histologique)

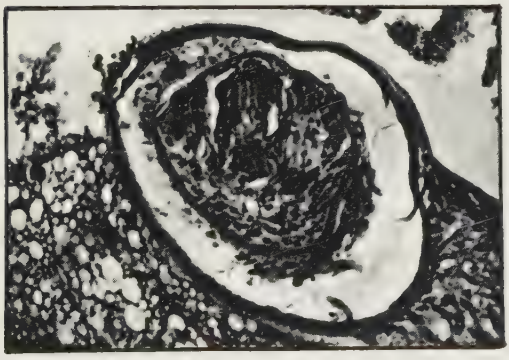
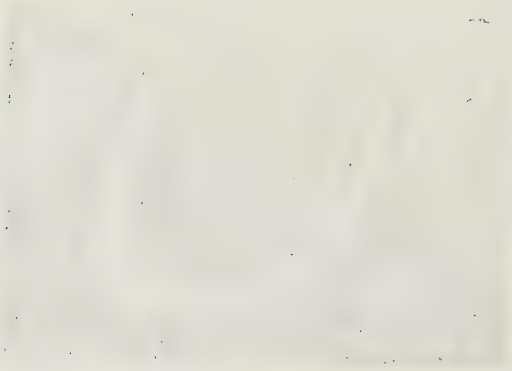


Photo 3 - Cysticercoïde d'Hymenolepis nana dans la cavité générale de Tenebrio molitor (Coupe histologique).



- la couche fibrillaire externe apparaissant nettement réfringente

- la paroi externe de la cavité à l'intérieur de laquelle le scolex est invaginé,

- un espace vide correspondant à la cavité,

- la paroi interne de la cavité,

- et au centre, le scolex avec le rostre, les crochets et les ventouses.

Nous avons essayé de mettre en évidence des modifications des tissus de l'hôte au voisinage du parasite, après la lecture de nombreuses études consacrées aux réactions des Invertébrés aux parasites et, en particulier des observations relatives aux Nematodes des Insectes.

Ainsi, Tenebrio molitor peut être parasité par un petit Nematode : Physaloptera maxillaris; il réagit parfois en provoquant la mort du parasite, le cadavre apparaissant alors imprégné d'un pigment brun.

Travaillant sur Tenebrio molitor infesté par des oeufs et des larves de Nemeretis canescens (Ichneumides), SALT (100) signale une réaction hémocytique avec formation d'une capsule tissulaire et dépôt de mélanines autour de la bouche et de l'anus des larves du parasite.

Faisant une revue générale des phénomènes observés chez les insectes infestés par divers parasites, il (101) décrit des réactions de type cellulaire : il y a attraction des cellules sanguines autour du parasite, encapsulement avec formation ou non d'un syncytium, puis dégénérescence des cellules qui se transforment en une membrane anhiste avec inclusion possible de débris mêlés à des granulations mélaniques.

On peut observer également des réactions cellulaires au niveau de divers tissus : par exemple, les microfilaires peuvent s'enkyster dans les muscles du moustique avec dépôt de pigment mélanique entre les fibres musculaires.

La réaction mélanique de la part de l'insecte vis-à-vis d'un parasite est un phénomène qui semble être assez général. Les parasites les plus fortement pigmentés sont souvent morts, ce qui ne signifie pas que le pigment ne se soit déposé qu'après la mort. La nature mélanique de ce pigment n'est pas étonnante si l'on considère la présence normale et abondante de tyrosine et tyrosinase dans les tissus des insectes.

Le pigment se développe souvent à l'intérieur d'une capsule cellulaire, toujours dans les couches internes et à la surface du parasite chez lesquels il n'imprègnent jamais les téguments en profondeur.

La possibilité de réactions de type humoral a également été avancée sans qu'on n'ait jamais pu en faire la preuve.

CHEN (26) nous a fourni la seule information que nous ayons pu recueillir en ce qui concerne les cestodes parasites des insectes. Travaillant sur des puces parasitées par des cysticercoïdes de Dipylidium caninum, il décrit chez celles-ci un double mécanisme réactionnel :

1 - un encapsulement plus ou moins total de certains cysticercoïdes par des amoebocytes (cellules sanguines) de l'insecte ;

2 - la formation, à l'intérieur de la capsule, d'un pigment mélanique.

Avec Hymenolepis nana, nous n'avons jamais observé, chez les ténébrions parasités, de formations comparables aux capsules décrites par CHEN. Le cysticercoïde nous est toujours apparu comme libre dans la cavité générale ou inclus au sein des tissus musculaires sans aucune modification de celui-ci à son contact. Nous n'avons non plus jamais observé de pigment noir. Toutefois, nous avons essayé de mettre en évidence l'apparition de pigments mélaniques ou de leurs précurseurs en ayant recours à des méthodes de colorations spécifiques.

Deux techniques ont été essayées :

1 - Mise en évidence de la réaction argentaffine des mélanines.

Pour identifier les mélanines, on utilise souvent la propriété qu'elles ont de réduire directement le nitrate d'argent ammoniacal; c'est la réaction de Masson-Fontana. Pour effectuer cette réaction sur les coupes de ténébrions infestés, nous avons utilisé la technique décrite par Mac Manus dans son ouvrage : "Staining methods histologic and histochimical" (70). Cette technique utilise le nitrate d'argent ammoniacal préparé de la façon suivante : on part d'une solution aqueuse de nitrate d'argent à 10 % qu'on additionne le 1/6 à 1/4 de son volume d'une solution aqueuse de potasse à 10 %. On ajoute au mélange une solution d'ammoniaque à 28 %, goutte à goutte, en agitant continuellement, jusqu'à ce que le précipité soit complètement dissous. On ajoute alors de la solution de nitrate d'argent, goutte à goutte, tant que le précipité obtenu se dissout aisément. On dilue la solution obtenue avec une fois son volume d'eau. Le réactif est alors prêt à l'emploi.

Les coupes sont déparaffinées et rehydratées par passages successifs dans le toluène, puis dans des bains d'alcool de titre décroissant et enfin dans l'eau où on les rince très soigneusement.

On les dépose ensuite dans la solution de nitrate d'argent ammoniacal pendant une nuit à l'abri de la lumière.

On lave alors plusieurs fois à l'eau distillée et on plonge dans une solution à 0,2 % de chlorure d'or pendant 5 minutes.

On lave à l'eau distillée et on fait agir une solution à 5 % de thiosulfate de sodium pendant 5 minutes.

On lave à l'eau courante 5 minutes.

On colore le fond, par la méthode habituelle à l'hémalun-éosine par exemple, on déshydrate et on monte.

2 - Technique de BODIAN au protargol

Nous avons essayé cette technique décrite par LANGERON (64) dans son Précis de Microscopie, en utilisant divers temps et diverses températures d'immersion dans la solution de protargol, ainsi que plusieurs temps de décoloration par la solution d'acide oxalique (jusqu'à 1 heure alors que BODIAN indique 2 à 5 minutes). Nous avons toujours obtenu des préparations très noires.

A notre avis, notre échec tient sans doute à la qualité du protargol que nous avions à notre disposition. LANGERON signale la difficulté qu'il y a à se procurer un protargol de qualité satisfaisante. Toutefois, pour nous assurer que la coloration obtenue n'était pas due à des pigments mélaniques, nous avons pratiqué la même coloration après un séjour des coupes de 48 heures dans l'eau oxygénée qui détruit les pigments mélaniques. Bien que très abîmées par leur séjour dans l'eau oxygénée, nos coupes présentaient alors une coloration aussi intense que celles qui n'avaient pas séjourné dans l'eau oxygénée. Donc, que ce soit à l'examen direct ou avec les colorations spécifiques, nous n'avons jamais pu mettre en évidence des dépôts de mélanines.

La cysticercoïde semble bien exister à l'état "libre" dans la cavité générale de l'insecte et, du moins dans nos conditions d'infestation, ne pas déclencher chez celui-ci des mécanismes de défense cellulaire. Ceci est très curieux si on le compare à ce qui se passe avec les nématodes parasites des mêmes insectes. De plus il est remarquable de constater combien le parasitisme par Hymenolepis nana est bien supporté par l'hôte : celui - ci peut héberger plusieurs centaines de cysticercoïdes sans en paraître affecté. Donc,

le parasite semble vivre "en bonne intelligence "avec son hôte et on ne retrouve pas, chez celui-ci, contrairement à ce qui se passe chez la Souris, de stigmates de son passage. L'insecte serait-il lui, sensible aux réinfestations ? Nous comptons entreprendre ultérieurement cette étude, en étudiant l'éclosion in vivo et le passage des embryons à travers l'intestin, lors d'un repas d'oeufs administrés à des ténébrions déjà infestés depuis un certain temps.

oOo

C - INFESTATION EXPERIMENTALE D'AUTRES INSECTES

Classiquement, de tous les hôtes vecteurs habituels d'Hymenolepis nana, seules les puces sont capables de s'infester à l'état larvaire; c'est à tort qu'en 1952, STEIN (112) avait cru découvrir un cysticercoïde d'Hymenolepis nana dans une larve de Tenebrio.

Cependant, en 1959, SCHILLER (102) réussissait à infester des larves de Tribolium confusum. En 1964, VOGE et GRAIWER (127) signalaient la présence de cysticercoïdes chez des larves de Tenebrio infestées expérimentalement par ingestion d'oeufs d'Hymenolepis diminuta qui possède, vis-à-vis de ses hôtes intermédiaires un comportement comparable à celui d'Hymenolepis nana; ces cysticercoïdes sont très peu nombreux et difficiles à mettre en évidence, ce qui explique qu'ils aient pu échapper jusqu'ici aux investigations.

Etudiant le contenu intestinal de larves de Tenebrio nourries avec des oeufs d Hymenolepis, ils y trouvent beaucoup d'embryons normalement éclos.

D'autre part, ils réussissaient à faire évoluer les mêmes cysticercoïdes, en très grand nombre cette fois, en introduisant directement dans la cavité générale des larves de Tenebrio, des oncosphères obtenues par éclosion des oeufs in vitro. C'est donc que l'intestin de la larve, contrairement à celui de l'adulte, constituerait une barrière anatomique ou physiologique au passage des oncosphères. D'ailleurs l'histologie montre des différences très nettes entre la structure de l'intestin de l'adulte et celle de l'intestin de la larve. En particulier, on trouve chez cette dernière une membrane péritrophique épaisse et des cellules très serrées les unes contre les autres. Enfin, le transit intestinal semble être nettement plus rapide chez la larve que chez l'adulte.

Les auteurs pensent que cette dernière particularité, jointe à la structure particulièrement dense de la paroi intestinale, expliquerait le peu de réceptivité de la larve au parasite, alors que sa cavité générale constitue, pour le même parasite, un milieu tout aussi favorable que celle de l'adulte.

Ces expériences étaient menées chez un hôte normalement réceptif et il est naturel de penser qu'il existe toujours une certaine continuité entre la larve et l'image et en particulier que le mi-

lieu intérieur, l'hémolymphe, possède, chez l'un et l'autre, une composition comparable. Les hôtes vecteurs auraient alors en commun des facteurs indispensables à la croissance du cestode et qui conditionneraient l'électivité du parasitisme.

En 1959, SCHILLER (102) avait essayé de parasiter expérimentalement par H. nana var. fraterna divers insectes choisis parmi ceux qui vivent habituellement dans les denrées alimentaires et qui, de ce fait, seraient susceptibles de jouer un rôle dans la transmission du parasite. Il utilise une technique d'infestation par voie buccale proche de celle que nous avons utilisée chez Tenebrio molitor. De cette façon, il réussit à infester Tribolium castaneum, des larves et des adultes de Galleria melonella (fausse teigne des ruches,, des adultes de Dermestes lardarius, et, avec un très faible pourcentage, Sitophylus oryza.

Il retrouve, chez tous ces hôtes expérimentaux, des cysticercoïdes complètement développés dont il vérifie le pouvoir infestant en les administrant à des souris chez lesquelles le développement s'est poursuivi jusqu'au stade adulte.

En revanche, il échoue dans ses essais d'infestation de larves de Tenebrio molitor, de Dermestes lardarius, ainsi que d'adultes de Periplaneta americana et de Passalus cornutus.

Nous pouvons nous poser ici la même question que tout à l'heure : est-ce la composition du milieu intérieur de l'Insecte qui conditionne la possibilité pour lui d'assurer le développement du cysticercoïde ?

Prenant la suite des travaux de SCHILLER et de VOGE, nous avons tenté à notre tour l'infestation expérimentale de divers insectes.

1 - Travaux personnels sur différentes espèces de Blattes (Dictyopteres).

1) Tout d'abord nous nous sommes adressée à une espèce que SCHILLER (102) n'avait pu réussir à parasiter : Periplaneta americana et nous inspirant des travaux de VOGE et GRAIWER (127) nous avons tenté d'y implanter des embryons éclos "in vitro", en les introduisant directement dans la cavité générale de l'insecte.

a) - Technique utilisée

Nous avons opéré de la façon suivante :

Les exemplaires adultes d'Hymenolepis nana sont obtenus par autopsie de souris parasitées et ouverture des dernières por-

tions de l'iléon. Les helminthes prélevés sont broyés au mortier avec quelques millilitres de liquide de Ringer. Le broyat obtenu est agité pendant 5 minutes avec des billes de verre ; cette opération a pour but de briser la coque externe de l'oeuf. On ajoute alors un volume égal de la solution suivante :

- Liquide de Ringer ..... 10 ml
- Trypsine (CHOAY en poudre à 333.000 U.S.T./g) 27.000 unités
- Amylase (en poudre) :... 250 mg

afin de provoquer la lyse de la membrane hyaline et la rupture de l'embryophore. Le tout est abandonné une heure et demie à l'étuve à 30°.

A ce moment, on observe, dans le milieu, des embryons hexacanthes libres, parmi de nombreuses coques brisées, d'oeufs conservant des lambeaux plus ou moins importants de membrane hyaline, et des embryons encore enfermés dans leurs embryophores. La plupart de ces derniers montrent une très grande activité, alors qu'une fois libérés ils deviennent aussitôt immobiles.

Lors de nos premiers essais, nous injections directement ce mélange aux blattes. Mais nous obtenions alors une mortalité de près de 100 % au bout de 24 heures. Par la suite, nous avons modifié notre technique afin d'éliminer les enzymes que nous avions introduits dans la préparation. Nous laissons sédimenter la suspension, et après avoir éliminé le liquide surnageant, nous procédons à trois lavages successifs par décantation au moyen de liquide de Ringer. Les embryons remis en suspension dans le même liquide sont introduits dans la cavité générale des blattes. Pour ce faire, on utilise une aiguille très fine (5/10) montée sur une petite seringue et on pratique l'injection entre deux sternites abdominaux. De cette façon, l'injection est assez bien supportée quoiqu'on observe toujours une certaine mortalité (de 10 à 25 p. 100) chez les insectes traités.

Les blattes infestées sont placées à l'étuve à 30°, et on surveille chaque jour le développement des embryons par dissection dans du soluté physiologique.

b) - Résultats obtenus

Dans ces conditions, nous avons obtenu une infestation quasiment constante, aussi bien chez les adultes que chez les larves de Periplaneta. Les cysticercoïdes sont présents en très grand nombre et très actifs.

Toutefois, on observe un retard de développement et des anomalies morphologiques. Alors que chez le Ténébrion infesté par voie buccale, le cysticercoïde acquiert son aspect définitif en 4 à 5 jours, ici, au bout de 6 jours, nous n'avions pas obtenu l'invagination du rostellum et les crochets n'existaient qu'à l'état d'ébauches. Une de nos blattes infestées a été disséquée au bout de 8 jours. Elle contenait de nombreux cysticercoïdes. A ce stade, les crochets étaient bien développés, mais le cysticercoïde conservait un aspect anormal avec un scolex grêle n'occupant qu'une partie de la cavité de la capsule qui présentait elle-même une structure inhabituelle. On observait enfin de grosses ventouses qui, au lieu d'être appliquées assez étroitement sur le scolex, faisaient largement saillie dans la cavité de la capsule.

Parallèlement à ces expériences, nous avons effectué deux séries de contre-épreuves :

1) - Des blattes ont été nourries avec des oeufs d'Hymenolepis suivant la technique décrite pour le Ténébrion. Nous avons observé les animaux au cours de ce repas, et nous avons pu vérifier qu'il était ingéré. Certains ont été disséqués au bout d'une heure et au bout de deux heures : leur tube digestif contenait de nombreux oeufs et des coques brisées. Toutefois, nous n'avons pas pu observer d'embryons libres.

Les autres insectes ont été sacrifiés au bout de 6 jours : aucun des cinq insectes examinés n'hébergeait de cysticercoïdes.

2) - Des Ténébrions ont été infestés par voie intra-cavitaire selon la technique décrite plus haut. Ils ont été sacrifiés au bout de 6 jours. Ils contenaient de nombreux cysticercoïdes normaux et au même stade de développement que ceux que l'on obtient dans le même temps en les infestant par la voie buccale.

c - Conclusion

On peut donc conclure:

1) que la Blatte est capable d'ingérer les oeufs et de briser mécaniquement la coque externe;

2) - que l'absence de cysticercoïdes dans la cavité peut s'expliquer :

- soit parce que la Blatte est incapable de provoquer la lyse enzymatique des enveloppes sous-jacentes (ce qui serait en accord avec le fait que nous n'avons pas observé d'embryons libres dans le tube digestif),

- soit parce que son intestin se comporte comme une barrière pour les embryons libérés que nous n'avons pas observés, mais qui ont pu échapper à nos investigations.

3) - Que le milieu intérieur de la Blatte est parfaitement capable d'assurer la survie et le développement du parasite. Cependant, des anomalies sont observées et elles ne sont pas dues aux traitements subis par l'embryon lors de l'éclosion in vitro puisqu'on ne les retrouve pas chez des ténébrions infestés de la même façon que les blattes par voie intra-cavitaire. Il semblerait donc que la Blatte soit incapable de fournir au parasite certains facteurs utiles à sa croissance normale et qui se trouve chez les hôtes normaux.

Les mêmes expériences ont été réalisées chez une autre espèce Leucophaea maderae.

Sur cinq insectes infestés par la voie buccale, aucun n'a été trouvé parasité.

Les essais d'infestation par voie intra-cavitaire ont été effectués sur un lot de 7 insectes qui se sont tous révélés parasités à l'autopsie.

L'un d'eux a été sacrifié au bout de 3 jours : il contenait de très nombreux embryons et leur aspect était celui des larves du même âge obtenu chez Tenebrio molitor

Un second a été disséqué au bout de 7 jours : les cysticercoïdes présentaient des anomalies morphologiques : scolex anormalement petit, au large dans une capsule trop vaste pour lui, queue de forme tourmentée. Leur aspect était sensiblement différent de celui des exemplaires provenant de Periplaneta americana. En particulier, ici, le scolex n'était pas étiré et grêle, mais au contraire, souvent comme écrasé contre la paroi interne de la capsule.

Les cinq dernières blattes ont été sacrifiées au bout de 14 jours. Nous reviendrons plus loin sur l'aspect très caractéristique des cysticercoïdes hébergés à ce stade.

Quant à leur pouvoir infestant pour la Souris, nous avons pu en faire la preuve en opérant de la façon suivante :

Nous avions choisi 5 souris indemnes de toute contamination antérieure. Elles provenaient d'une même portée et séparées de leur mère dès l'âge de 15 jours, elles avaient été nourries avec du lait en poudre. Lorsque nous les avons utilisées, elles avaient 4 semaines.

Les cysticercoïdes isolés et remis en suspension dans quelques ml de liquide de Ringer ont été administrés à trois d'entre elles, par voie buccale, à l'aide d'une canule oesophagienne; les deux autres nous ont servi de témoins.

Toutes les souris ont été sacrifiées au bout de 6 jours.

Les deux souris témoins n'étaient pas parasitées alors que les trois autres hébergeaient de très nombreux cestodes parfaitement normaux et à un stade de développement correspondant tout à fait à l'âge de l'infestation.

Ainsi donc, les cysticercoïdes qui se développent chez Leucophaea maderae sont viables et capables d'infester l'hôte définitif : ceci est assez surprenant étant donné les anomalies morphologiques constatées et le fait, comme nous l'allons voir, que l'intrusion anormale des embryons déclenche chez l'insecte des réactions qui semblent dirigées contre le parasite.

3 - Réaction des blattes à la présence du matériel infestant dans leur organisme.

Nous avons vu qu'on n'observait aucune réaction de la part des ténébrions infestés par la voie buccale.

Dès nos premières expériences sur Periplaneta americana, nous avons été frappée par l'apparition, chez celles-ci, de granulations noirâtres, abondantes, visibles à l'oeil nu lors de la dissection, de telle sorte qu'il nous était possible de reconnaître immédiatement les animaux infestés. Au microscope, ces granulations se présentaient comme des amas de pigment noir entourés d'une épaisse capsule non pigmentée, de nature cellulaire. Souvent, on observe, au centre de ces capsules, des coques vides et des oeufs plus ou moins recouverts de pigment.

Nous avons obtenu des résultats analogues chez Leucophaea maderea. Alors que nous n'observions rien de particulier au bout de trois jours, au 7è jour de l'infestation de nombreux cysticercoïdes étaient recouverts de dépôts noirâtres et on retrouvait les capsules pigmentées signalées chez Periplaneta americana.

Les formations les plus caractéristiques furent observées chez les animaux sacrifiés au bout de 14 jours. Les scolex, entourés d'une capsule propre mince, y étaient réunis par groupes d'une dizaine parfois davantage, à l'intérieur d'une masse formée de couches cellulaires plus ou moins concentriques dont le centre était occupé par un amas de granulations noirâtres renfermant des oeufs et des débris de coques. La queue de ces cysticercoïdes avait tota-

PLANCHE V

Photo I - Cysticercoïde d'Hymenolepis nana chez Tenebrio molitor.

Photo 2 - Cysticercoïde d'Hymenolepis nana chez Periplaneta americana

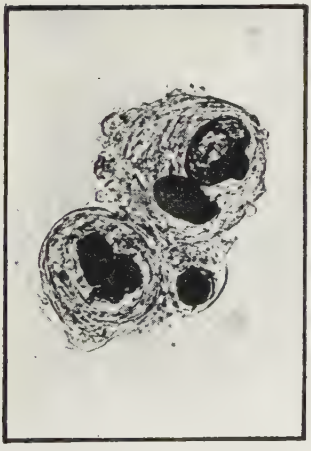


Photo 3 - Capsules et dépôts pigmentaires autour d'oeufs d'Hymenolepis chez Periplaneta americana

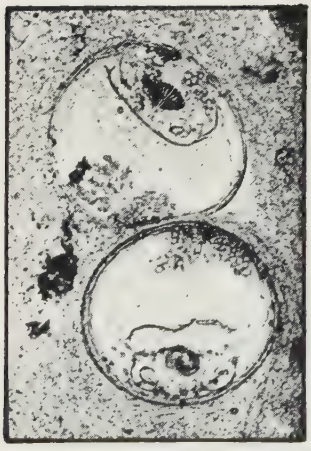
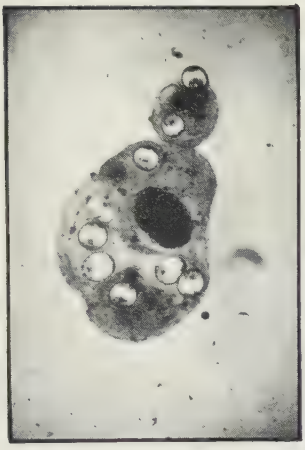
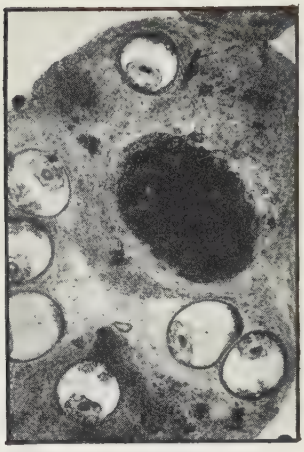
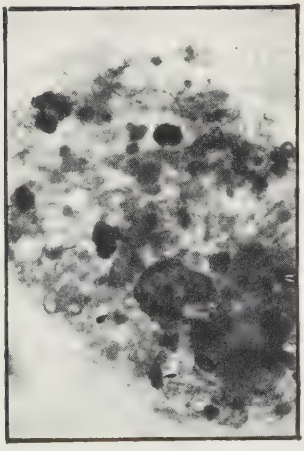


Photo 4 - Cysticercoïdes d'Hymenolepis nana chez Leucophaea maderae

PLANCHE VI







Type de formation observée chez Leucophaea maderae experimentalement infestée par Hymenolepis nana, au 14ème jour de l'infestation (grossissements divers).

lement disparu. Certaines de ces formations mesuraient plusieurs millimètres. Souvent, elles étaient adhérentes aux téguments et aux organes internes de l'insecte.

Les blattes semblent très bien supporter le parasitisme : au bout de 14 jours, tous les insectes traités étaient vivants et avaient un comportement parfaitement normal.

Ces constatations nous ramènent aux phénomènes d'encapsulement et de mélanisation que nous avons évoqués plus haut et que l'on observe dans diverses parasitoses de l'Insecte. En particulier, ces faits sont à rapprocher des observations de CHEN (26) sur les puces parasitées par des cysticercoïdes de Dipylidium caninum.

Nous nous proposons d'étudier ultérieurement la nature du pigment observé ici. A priori, nous sommes tentée de penser qu'il s'agit là aussi d'une réaction de mélanisation et d'encapsulement.

Or, nous n'avons observé de tels phénomènes que chez un hôte anormal que nous avons en quelque sorte contraint à héberger le parasite. Cette inadaptation des cysticercoïdes au Leucophaea ne serait-il pas la preuve de l'adaptation plus parfaite du Cestode à son hôte normal, le Ténébrion ?

2 - Travaux personnels sur Gryllus domesticus (Orthoptère) Grillon du foyer.

PUJATTI (80 bis) signale la présence de cysticercoïdes ressemblant à ceux d'Hymenolepis nana chez 2 % des Gryllodes sigillatus (Orthoptère) capturés dans la cuisine d'un hôpital militaire, aux Indes. Ces cysticercoïdes se montrent infestants pour le Rat. Il signale également le fait que l'un des cuisiniers fut trouvé porteur du parasite.

Cette observation nous incita à tenter l'infestation d'un autre Orthoptère, hôte familier des maisons : Gryllus domesticus.

Ici aussi, nous avons essayé de parasiter les insectes suivant les deux techniques : repas infestant ou introduction dans la cavité générale, d'embryons éclos "in vitro". Par cette dernière technique, sur 8 insectes infestés, nous avons eu 4 survivants tous parasités.

Huit grillons ont été infestés par la voie buccale. A l'autopsie, 4 se sont révélés parasités; ils abritaient respectivement : 5, 5, 7 et 150 cysticercoïdes.

Dans les deux cas, les contrôles ont été effectués aux 5e et 6e jours de l'infestation.

Les cysticercoïdes obtenus avaient un aspect parfaitement normal et même se trouvaient dans un état de développement avancé par rapport à celui des larves du même âge chez Tenebrio molitor : grande taille, capsule bien formée, queue importante.

Quelle que soit la voie d'introduction du parasite, nous n'avons observé ici aucune réaction de l'hôte : ni formation de capsule, ni production de pigment.

C'est à notre connaissance, la première fois qu on signale la présence de cysticercoïdes d'Hymenolepis nana chez Gryllus domesticus. Etant donné les caractères écologiques qui entraînent des contacts fréquents avec les rongeurs domestiques, ces insectes nous semblent pouvoir jouer dans la nature le rôle d'hôte vecteur du parasite.

3 - Travaux personnels sur le phasme : Carausius morosus (Dictyoptère)

Enfin, nous nous sommes adressée à un insecte très différent des précédents, tant par son habitat que par son régime alimentaire le Phasme : Carausius morosus

Un premier lot d'insectes a été infesté par la voie buccale. Les fragments d'Hymenolepis ont été disposés sur des feuilles de lierre, nourriture habituelle de ce Phasme. Aucun de ces animaux n'a été trouvé parasité lors des contrôles.

Un second lot a été infesté par la technique intra-cavitaire. Nous avons obtenu une très forte mortalité parmi ces derniers : sur 10 animaux ainsi traités, il n'y avait plus que 3 survivants 24 heures plus tard !

L'un de ces phasmes a été ouvert au bout de 2 jours et les 2 autres au bout de 5 jours. Aucun n'était parasité. En revanche, ils contenaient en grand nombre les formations capsulaires déjà observées chez les blattes, avec dépôts pigmentaires, autour d'un ensemble d'oeufs et de débris de coquilles.

Cette réaction, observée chez les insectes qui n'hébergent pas normalement le Cestode, semble donc être un phénomène assez général qui serait susceptible d'être déclenché même en l'absence de tout développement parasitaire consécutif à l'introduction du matériel infestant dans l'organisme.

oOo

TABLEAU II

Résultats de l'infestation de divers Insectes par Hymenolepis nana, variété fraterna.

HOTE	Mode d'infestation	Résultats de l'infestation	Morphologie du cysticercoïde	Pouvoir infestant du cysticercoïde vis-à-vis de la souris.	Réactions de la part de l'hôte
Tenebrio molitor (Coléoptère)	Oral	+	Normale	+	Nulles
	Intracavit.	+	Normale	non recherché	Nulles
Gryllus domesticus (Orthoptère)	Oral	+	Normale	non recherché	Nulles
	Intracavit.	+	Normale	non recherché	Nulles
Periplaneta americana (Dictyoptère)	Oral	-			
	Intracavit.	+	Anormale	non recherché	+
Leucophaea Maderae (Dictyoptère)	Oral	-			
	Intracavit.	+	Anormale	+	+
Carausius morosus (Dictyoptère)	Oral	-			
	Intracavit.	-			+

D - ESSAIS DE CULTURE IN VITRO

a) - Comportement des oeufs in vitro

Des oeufs mis en suspension dans du liquide physiologique se montrent incapables d'éclore in vitro. Si on les examine au microscope, on voit qu'il existe toujours un faible pourcentage de ces oeufs à l'intérieur desquels l'embryon est mobile. Au début, on observe chez cet embryon une tendance à orienter les crochets parallèlement les uns aux autres, pointe tournée vers l'extérieur. Puis l'activité augmente et l'embryon commence à remuer ses crochets dans un mouvement de va-et-vient, en quart de cercle, plus ou moins rapide. En même temps, le corps de l'embryon se contracte et se relâche rythmiquement. Parfois, à la suite de ces mouvements violents au cours desquels il semble vouloir déchirer avec ses crochets son embryophore, l'embryon brise celui-ci, en sort et se retrouve libre à l'intérieur de la coque de l'oeuf. Là, il continue à être mobile pendant un certain temps, puis le mouvement se ralentit et cesse. Nous n avons jamais observé d'éclosion dans ces conditions. En revanche, au cours de nos expériences sur les blattes, nous avons vu qu'en utilisant la méthode décrite par VOGE et GRAIWER (127), nous obtenions des embryons libres. Dans un premier temps, il y a rupture mécanique de la membrane externe de l'oeuf, par agitation du broyat d'Hymenolepis en présence de billes de verre. Si on examine les oeufs à ce moment, on observe d une part un grand nombre de ces enveloppes brisées, d'autre part, des embryons hexacanthes entourés de leurs embryophores sur lesquels demeure la couche muqueuse, enrobant encore les filaments polaires. Après action de la trypsine et de l'amylase, il ne reste plus que des lambeaux de cette dernière et souvent même elle a complètement disparu. Dans ce cas, l'embryon n'est plus entouré que par son embryophore sur lequel les filaments polaires sont restés attachés. Enfin, à ce moment, nous l'avons observé, un certain nombre d'embryons sont libres, totalement débarrassés de leur embryophore. A plusieurs reprises, il nous a été possible de suivre la sortie de l'embryon dans le milieu extérieur. Tout d'abord, il est animé de mouvements violents comparables à ceux que nous avons déjà décrits dans l'oeuf en suspension dans le soluté de chlorure de sodium à 9 °/$_{oo}$. Mais ici, son effort aboutit à la rupture de l'embryophore en un point quelconque. Les mouvements de rétraction et d'expansion s'accentuent tandis que l'embryon s'extrait de son enveloppe. Quand il est complètement libéré, ses mouvements se calment et il devient immobile. C'est pourquoi il

nous a été difficile de déterminer le temps de survie in vitro du parasite à sa sortie de l'oeuf. En tout cas, au bout de 24 heures, il nous fut impossible de retrouver des embryons mis en suspension dans du liquide de Ringer.

b) - Essais de survie des cysticercoïdes isolés à partir de ténébrions.

Pour ces essais de survie in vitro, nous avons utilisé des cysticercoïdes obtenus par dissection de ténébrions infestés depuis 6 à 8 jours, c'est-à-dire ayant largement dépassé le stade de l'invagination du scolex et de la formation de la capsule.

On dissèque les insectes dans une boîte de Pétri contenant du soluté physiologique. On les repère à la loupe binoculaire, on les prélève un à un, à l'aide d'une pipette Pasteur montrée sur un tube d'aspiration et on les transporte sur le milieu de survie contenu dans de petits cristallisoirs munis de couvercles fermant hermétiquement afin d'éviter l'évaporation.

Plusieurs milieux ont été essayés :

1 - Essai de survie dans du soluté de chlorure de sodium à 9 °/$_{oo}$.

Les essais ont été effectués d'une part à 30°C, température optimum du développement chez l'insecte, d'autre part à 37°C.

La durée de survie maximum observée a été de 48 heures, que ce soit à 30°C ou à 37°C. Souvent les cysticercoïdes étaient morts dès le lendemain de la mise en culture; dans ce cas, la pullulation microbienne était importante, surtout à 37°C. Nous avons pensé que c'était peut être là la cause de nos échecs et nous avons essayé d'ajouter des antibiotiques au milieu : Pénicilline 500 U.I. et Streptomycine 0,1 mg/ml. Nous n'avons pas obtenu de survies plus longues qu'en l'absence d'antibiotique : le maximum de survie n'a jamais dépassé 48 heures, aussi bien à 30°C qu'à 37°C. En revanche, les résultats se sont montrés beaucoup plus réguliers.

2 - Essai de survie dans le milieu de SEN et HAWKING (106)

Ce milieu a la composition suivante :

- Peptone : 10 g
- Extrait de levure : 2,50 g
- Chlorure de sodium : 5 g
- Eau distillée : 1000 ml

Le pH est ajusté à 8, 5, par addition de 2 ml de soude à 40 %.

Au moment de l'emploi, on ajoute :

- Pénicilline : 2.000 unités/ml
- Streptomycine : 1 mg/ml

Dans ce milieu maintenu à 37°C, les auteurs, et à leur suite, CAVIER et NOTTEGHEM (25) ont obtenu, avec des adultes d'Hymenolepis nana, des survies de 5 jours, sans aucun développement microbien.

Pour nous qui travaillions sur des cysticercoïdes, ce milieu n'a pas donné de résultats supérieurs à ceux obtenus avec la solution isotonique de chlorure de sodium additionnée de pénicilline et de streptomycine.

3 - Essai de survie en milieu glucosé

Nous avons utilisé le milieu déjà employé par TAYLOR (118) Sa formule est la suivante :

- Liquide de Ringer : 25 ml
- Eau distillée : 25 ml
- Tampon phosphate à pH 7 : 50 ml
- Glucose : 1 g

On ajoute au milieu :

- Pénicilline : 500 U.I./ml
- Streptomycine : 0,1 mg/ml

Les insectes infestés depuis 6 jours sont disséqués directement dans ce milieu et les cysticercoïdes sont ensuite transportés un à un dans du liquide neuf.

La culture est mise à 30°C

Nous avons obtenu de cette façon des survies in vitro de 5 à 7 jours.

TAYLOR conseille de renouveler le milieu tous les jours.

Ce procédé n'a pas amélioré nos résultats. D'ailleurs, la durée de survie donnée par ce dernier auteur est à peu près équivalente à la nôtre. Dans nos cultures, le développement microbien était négligeable. En revanche, il semble bien que la mort des cysticercoïdes soit provoquée par la pullulation des champitnons qui se développent au bout de quelques jours, les entourant d'un réseau de plus en plus

serré. Les premiers signes de souffrance se traduisent par la lyse progressive de la queue, le scolex demeurant d'abord normal. Puis l'attaque de la capsule a lieu : le scolex s'immobilise et se désorganise.

Le but de nos essais de survie in vitro était simplement d'obtenir un matériel pour l'étude de l'action des "ténicides" sur le stade cysticercoïde d'Hymenolepis et notre propos n'était pas d'obtenir à proprement parler des cultures.

BERNTZGEN (11) en 1960, travaillant sur Hymenolepis diminuta obtint à partir de cysticercoïdes isolés de la cavité générale d'insectes, une croissance jusqu'au stade adulte gravide. Il opère à 37°C en milieu stérile, dans un appareil assurant une circulation continue d'un milieu complexe comparable à ceux utilisés pour les cultures de tissus. Il note la nécessité d'opérer sur un grand nombre d'helminthes; seuls, certains se développent. Les autres donneraient, par autolyse, des produits nécessaires à la croissance des premiers.

oOo

E - LA DESTINEE DU CYSTICERCOIDE CHEZ L'INSECTE

Le cysticercoïde peut demeurer très longtemps dans la cavité générale des insectes sans perdre son pouvoir infectant pour les rongeurs. La capsule et le scolex ne se modifient pas, en revanche la queue continue à croître.

Expérimentalement, l'infestation de rongeurs par ingestion d'insectes parasités se réalise facilement. C'est d'ailleurs une règle générale que l'infestation de l'hôte définitif est plus facile que celle de l'hôte intermédiaire.

Lorsque l'hôte vecteur est ingéré par l'hôte définitif, la larve est libérée. La capsule jouerait alors un rôle protecteur : elle protégerait le parasite de l'attaque par le suc gastrique. Cependant, pour HEYNEMAN, WELSH et VOGE (49) l'intégrité de cette membrane ne serait pas indispensable au développement ultérieur chez l'hôte définitif : ils réussirent à infester des souris avec des cysticercoïdes évaginés in vitro.

Le cysticercoïde arrivé au niveau de l'iléon, le scolex s'évagine et se fixe entre les villosités intestinales.

JOYEUX (59) avait déjà observé l'évagination de cysticercoïdes d'Hymenolepis diminuta in vitro : il observait que la sortie du scolex se faisait en un point diamétralement opposé à la queue.

A sa suite, divers auteurs ont essayé de préciser le rôle des différents facteurs conditionnant le phénomène (EDGAR - 34, ROTHMAN - 96).

In vitro, ROTHMAN a montré que l'acide chlorhydrique avait un effet "préparant", la pepsine un rôle dissolvant sur la capsule et que l'excystement peut être obtenu en présence de trypsine et de sels biliaires, bien que ce dernier traitement ne soit plus nécessaire si le contact avec la trypsine est prolongé assez longtemps. De plus il existe une concentration optimum de ces différents facteurs, et pour ROTHMAN, la nature et la composition quantitative des secrétions digestives ainsi que la vitesse du transit intestinal, variables d'un hôte à l'autre, joueraient un rôle dans la spécificité parasitaire.

oOo

3 - L'HYMENOLEPIS NANA CHEZ LES RONGEURS.

A - LES HOTES INTERMEDIAIRES

Divers rongeurs peuvent abriter Hymenolepis nana var. fraterna. Rats, souris, hamsters sont les plus fréquemment parasités.

RANSOM (82) rapporte un cas d'infestation spontanée chez le cobaye et HUNNINEN (55) parvient à obtenir des infestations expérimentales chez ce dernier Rongeur. Le Mulot, le Campagnol et Peromycus maniculatus ont également pu être infestés.

Pour nos travaux, nous avons choisi la Souris qui semble être l'hôte d'élection du parasite.

- Les méthodes d'infestation

Le choix des souris à parasiter :

C'est là le premier problème qui se pose. Nous avons déjà vu qu'une première infestation conférait aux animaux une immunité qui s'opposait aux réinfestations ultérieures, même après expulsion des vers, et que cette immunité était transmissible de la mère au foetus et aux petits pendant l'allaitement. Ces considérations guident le choix des animaux à infester. Avant toute chose, il faut disposer de souris jeunes, chez lesquelles l'immunité passive transmise par la mère n'a pas encore disparu.

Après bien des déboires, nous résolûmes de nous faire livrer par les éleveurs des souris de trois semaines, immédiatement après le sevrage, ayant toutes le même poids, éliminant ainsi la présence éventuelle de souris plus âgées susceptibles de contaminer ultérieurement tout le lot.

Les souris sont alors gardées dans l'animalerie avant d'être infestées en veillant à ce qu'elles soient maintenues dans des conditions d'hygiène très strictes et à l'abri de toute contamination extérieure.

L'âge optimum pour l'infestation expérimentale se situe entre 6 et 8 semaines; on obtient déjà un très fort pourcentage de succès avec des souris de 4 à 5 semaines.

Avant toute infestation, nous avons pris l'habitude de sacrifier un certain nombre d'animaux dans chaque lot afin de vérifier l'absence de cestodes adultes et de cysticercoïdes dans leur intestin.

- Infestation

Nous avons utilisé la technique décrite par CAVIER (22). On recueille, par autopsie de souris parasitées, des helminthes adultes, en prenant soin de préférer surtout les derniers anneaux contenant les oeufs mûrs. Ceux-ci sont broyés au mortier avec un peu de sérum physiologique et la suspension obtenue est mise à l'étuve à 37° durant une heure. Au bout de ce temps, on compte, à la cellule de Nageotte les oeufs contenant un embryon mobile. En effet afin d'obtenir des résultats quantitativement comparables, nous administrons toujours à chaque souris le même nombre d'oeufs mûrs, c'est-à-dire contenant un embryon mobile, considéré comme viable. La suspension d'oeufs est diluée dans du soluté isotonique de chlorure de sodium maintenu à 37° de façon à obtenir une concentration de 400 oeufs par ml.

Cette suspension est alors administrée aux souris, directement dans l'estomac, à l'aide d'une canule oesophagienne montée sur une seringue graduée, à raison de 0,25 ml par souris, c'est-à-dire 100 oeufs mûrs par animal.

oOo

B - LE CYSTICERCOÏDE DANS LES VILLOSITES INTESTINALES DE LA SOURIS

a) - Rappel du cycle décrit chez cet hôte

Dans ce cas, le cycle d'Hymenolepis nana s'effectue entièrement chez un seul hôte, la Souris, chez lequel on trouve tous les stades du développement. Le passage chez l'hôte intermédiaire du cycle indirect est supprimé, remplacé ici par l'existence d'un stade larvaire tissulaire.

La Souris s'infeste en ingérant les oeufs émis dans les matières fécales d'individus parasités. Dans l'intestin grêle, les embryons hexacanthes sont mis en liberté et vont se loger dans la muqueuse à la base des villosités. GRASSI (38 - 39) a pu observer le développement intra-tissulaire du parasite dès la 25è heure.

Nous avons suivi la destinée des oeufs, heure après heure, après l'infestation expérimentale. Trois heures après l'infestation, on ne retrouve déjà plus d'oeufs dans l'intestin grêle : c'est donc qu'à ce moment tous les embryons qui vont se développer ont déjà pénétré dans les tissus. Ces embryons se fixent électivement dans la partie moyenne de l'intestin grêle le deuxième quart, pour HUNNINEN (54), premier tiers pour BRUMPT (15). Cependant, il existe toujours un certain nombre de parasites qui se fixent ou plus haut ou plus bas, et dans toute étude quantitative il est indispensable d'examiner l'intestin grêle sur toute sa longueur. Un certain nombre de cysticercoïdes peuvent être également retrouvés dans les nodules lymphatiques du mésentère (SUSLOV - 117, GARKAVI - 36).

Une fois fixés, les embryons hexacanthes se transforment en cysticercoïdes mûrs en 4 ou 5 jours. A ce moment, ils s'évaginent et tombent dans la lumière intestinale où le jeune cestode se fixe et se développe. La fixation se fait principalement dans les dernières portions de l'iléon : deuxième tiers pour BRUMPT (15) dernier quart pour HUNNINEN (54). Les parasites sont adultes au bout de 14 à 30 jours.

b) - Mise en évidence des cysticercoïdes

Pour mettre en évidence le parasite à l'intérieur des villosités nous avons utilisé deux procédés :

- l'examen direct après dissection,

- l'examen histologique.

- Mise en évidence par l'examen direct

Nous avons utilisé la méthode d'HUNNINEN (53). Les souris sont tuées 96 heures après l'infestation, au moment ou les cysticercoïdes sont au maximum de leur développement, juste avant leur sortie hors des villosités.

On prélève le second quart de l'intestin grêle (ou l'intestin grêle en entier lorsqu'on désire faire une étude quantitative) on l'ouvre, on le lave soigneusement et on l'abandonne, dans un peu d'eau, au réfrigérateur à 4°C pendant au moins 24 heures.

On peut alors éliminer aisément le mucus par agitation dans un bain d'eau. Pour réaliser ce lavage, nous avons utilisé de petits récipients recouverts d'une gaze maintenue par un élastique et placés sous l'écoulement d'un robinet. De cette façon, on obtient un nettoyage parfait des fragments d'intestin en une dizaine de minutes. On les place alors dans une boite de Petri et on ajoute la quantité d'eau juste nécessaire pour recouvrir les villosités et les laisser flotter librement. Les cysticercoïdes apparaissent alors sous la loupe binoculaire (grossissement 16 ou 25), au niveau des villosités comme de petits renflements sombres à l'intérieur desquels les crochets du rostre sont nettement visibles.

- Mise en évidence par l'examen histologique

L'intestin est coupé en morceaux et lavé à l'eau à l'aide d'une seringue. On fixe au liquide de Bouin pendant 3 ou 4 jours. On inclut dans de la paraffine et on pratique des coupes en série que l'on colore par les méthodes classiques, en particulier la méthode au picro-carmin-indigo nous a donné de très bons résultats.

c) - Description du cysticercoïde dans les villosités intestinales de la Souris

Après avoir repéré le cysticercoïde dans la villosité, on peut, à l'aide d'une aiguille fine, le faire sortir hors des tissus, le prélever avec une pipette Pasteur et l'examiner au microscope entre lame et lamelle.

Il se présente comme une petite masse ovoïde. Sa taille est nettement inférieure à celle de la forme rencontrée chez l'insecte. Ce cysticercoïde est dépourvu de queue bien développée et ne possède pas d'enveloppe fibreuse. A l'intérieur on distingue le scolex invaginé avec ses ventouses et ses crochets. Les granulations calcaires semblent être absentes.

- Aspect en coupe histologique

Le cysticercoïde se présente comme une masse plus ou moins ovale au sein de la villosité. De l'extérieur vers l'intérieur, on distingue :

- l'enveloppe externe, cellulaire,
- la paroi externe de la cavité,
- un espace plus ou moins virtuel,
- la paroi interne de la cavité et le scolex avec les ventouses,
- et le rostre invaginé portant la couronne de crochets.

Tout autour, on remarque un infiltrat cellulaire qui signe la réaction de l'hôte contre le parasite.

oOo

TABLEAU III

	Nombre de souris infestées.	Nombre de souris effectivement parasitées.	Nombre moyen de vers/ souris
Numération des cysticercoïdes au 4ème jour de l'infestation.	24	24	84
Numération des adultes au 19ème jour de l'infestation.	14	14	102

C - L'ADULTE

- Evolution à partir du cysticercoïde

Un certain nombre de cysticercoïdes dégénèrent à l'intérieur des villosités. Mais, comme HUNNINEN (54), nous avons constaté que la proportion en reste toujours certainement faible. Ainsi, nous avons infesté un lot de 38 souris avec chacune 100 oeufs vivants. 24 souris ont été tuées au bout de 4 jours et les cysticercoïdes ont été comptés à l'intérieur des villosités intestinales selon la méthode d'HUNNINEN (53). Les autres ont été sacrifiées 15 jours plus tard, soit 19 jours après l'infestation, et nous avons procédé à la numération des adultes présents dans la lumière de l'intestin.

Pour le premier lot, nous avons trouvé une moyenne de 84 cysticercoïdes par souris et pour le second de 102 adultes par souris, chiffres qui peuvent être considérés comme à peu près équivalents (tableau III)

La durée de vie des cysticercoïdes à l'intérieur des villosités est de 102 à 144 heures (HUNNINEN - 54).

Au bout de ce temps, ils sortent obligatoirement de la villosité pour passer dans la lumière intestinale. Là, le scolex se dévagine, se fixe dans la partie terminale de l'iléon et commence à bourgeonner des proglottis. Il faut noter que cette croissance est très irrégulière; chez un même animal, des parasites de même âge peuvent avoir des tailles très différentes. D'autre part, moins l'infestation est importante, plus les vers sont grands : lorsque les vers sont nombreux, il se produit une inhibition de leur croissance.

On considère que les cestodes sont mûrs lorsque la souris commence à éliminer des oeufs dans les selles. Les adultes jeunes se distinguent aisément de ceux qui sont mûrs. En effet, chez les premiers, le dernier anneau se termine en pointe et les deux canaux excréteurs s'y rejoignent pour déboucher par un pore unique à la partie postérieure. Au contraire, les seconds ont perdu leurs derniers anneaux bourrés d'oeufs : leur extrémité postérieure est alors tronquée et les canaux excréteurs débouchent à l'extérieur par deux pores indépendants. C'est là du moins ce que nous avons observé généralement: si on examine les cestodes hébergés par des souris qui éliminent des oeufs dans les matières fécales,

la plupart présentent une extrémité postérieure tronquée.

Ceci est en désaccord avec les observations de SCHILLER (103), qui, dans les mêmes conditions, trouve un fort pourcentage d'helminthes dont le proglottis terminal est intact, alors qu'un bon nombre d'anneaux semblent avoir déjà été vidés de leurs oeufs.

Ils observe ces helminthes maintenus en survie dans du liquide de Ringer à 37° et note qu'au bout d'une trentaine de minutes ils commencent à se contracter rythmiquement tandis que les oeufs sont expulsés à la jonction des proglottis tout le long de la partie gravide du strobile.

Ceci n'exclut pas la possibilité d'une libération des oeufs in vivo par lyse des segments terminaux et même de la succession dans le temps des deux processus, cette destruction de la partie postérieure ne commençant que lorsque le parasite a atteint la maturité. L'auteur n'a d'ailleurs pas vérifié la viabilité des oeufs libérés in vitro à partir des segments pré-terminaux. Le fort pourcentage de cestodes entiers observé chez les souris qui éliminent des oeufs dans leurs fèces peut tout aussi bien être dû au fait que tous les parasites ne parviennent pas à maturité en même temps.

Au bout de combien de temps le parasite commence-t-il à émettre des oeufs ? STEWARD (113) signale la présence d'oeufs dans les selles à partir du 14ème jour suivant l'infestation.

Pour LARSH (67) les oeufs sont émis du 27ème au 62ème jour. Dans nos expériences, nous avons régulièrement constaté que l'élimination des oeufs ne commençait pas avant au moins 1 mois.

- Recherche des adultes dans l'intestin

Le dernier tiers de l'intestin grêle est prélevé et ouvert dans une boite de Pétri à fond quadrillé contenant un peu de soluté physiologique chauffé à 37°. Au bout d'une dizaine de minutes, la majorité des vers se sont détachés spontanément de la muqueuse; les scolex peuvent alors être examinés et comptés à la loupe binoculaire. Cependant, lorsqu'on désire faire une étude quantitative, nous nous sommes aperçue qu'il était indispensable de compléter cet examen par celui de la muqueuse elle-même sur laquelle un certain nombre de scolex restent toujours profondément enfoncés entre les villosités, et ceci particulièrement après l'action de certaines drogues "ténicides" comme nous le verrons plus loin.

oOo

TROISIEME PARTIE

HYMENOLEPIS NANA VAR. FRATERNA ET LES "TENICIDES".

I - UTILISATION DE HYMENOLEPIS NANA EN PHARMACODYNAMIE

Hymenolepis nana var. fraterna se présente au pharmacologue comme un parasite facile à obtenir et à entretenir au laboratoire, chez la Souris. La morphologie à tous les stades et le cycle en sont bien connus, ce qui permet de bien en contrôler la croissance. Enfin, lors des infestations expérimentales, on pourra, connaissant les relations hôte-parasite, se mettre dans les conditions les plus favorables.

N'oublions pas la possibilité de l'identité de ce parasite avec Hymenolepis nana de l'Homme. Cependant, ce que l'on recherche généralement, ce sont des drogues actives contre les grands Cestodes (Taenia Saginata et Taenia Solium), parasites les plus répandus, alors qu'Hymenolepis nana de l'Homme est peu fréquent et assez localisé géographiquement.

Or, ce dernier se montre souvent plus résistant que les grands ténias de l'Homme à l'action des ténicides, sans doute, parce que pouvant se trouver en grand nombre chez un même hôte, mais peut-être aussi parce que réagissant différemment.

Chez l'Homme DEBLOCK et CAFFIER (30) signalent, dans trois cas de parasitoses à Hymenolepis nana, trois échecs du traitement par le dichlorophène, alors qu'avec le même produit ils enregistrent un fort pourcentage de succès chez les sujets porteurs de Taenia Saginata. Ceci nous amène à parler des restrictions à faire quant à l'emploi d'Hymenolepis nana var. fraterna pour les essais pharmacodynamiques des ténicides.

Les sels d'étain possèdent une action ténicide certaine quoique moins radicale qu'on l'a souvent prétendu.

CASTEL, HARANT et GRAS (19, 37, 43) obtinrent, chez la souris infestée par Hymenolepis nana, 70 à 100 % d'animaux déparasités avec des doses de 100 et 500 mg/kg par prise, pendant 5 jours consécutifs. CAVIER (24) reprenant les mêmes essais, fut loin de retrouver ces résultats. Pour notre part, nous avons traité des souris expérimentalement infestées selon la technique que nous décrirons plus loin, pendant 4 jours, avec des doses journalières de 500 mg/kg. Quel que soit l'âge de l'infestation, nous n'avons jamais retrouvé, au cours de nos essais, une seule

souris déparasitée. Dans tous les cas, comme le montre le tableau I le nombre moyen de cestodes par souris était le même chez les animaux témoins et chez les animaux traités. Or, il est indéniable que ces mêmes sels d'étain sont actifs sur Taenia saginata, et cela à des doses bien inférieures à celles que nous avons utilisées lors de nos essais (Tableau IV).

Nous voyons là un exemple de la difficulté qu'il y a de passer de l'expérimentation animale à la thérapeutique humaine, et cela même si l'on se place dans les conditions les plus favorables.

Toutefois, quelles qu'en soient ses imperfections, cette méthode d'essai in vivo des ténicides reste, à l'heure actuelle, la plus valable et la grande majorité des drogues employées contre les grands cestodes de l'homme se sont montrées également actives sur Hymenolepis nana de la souris.

C'est ainsi que CULBERTSON et GREENFIELD (29) ont étudié les effets de la mépacrine administrée par voie buccale en prenant comme test d'activité la détermination du pourcentage de souris entièrement déparasitées.

HOLTON (51) utilisa une technique comparable pour l'étude d'extraits éthérés de fougère mâle.

En 1956, CAVIER (21) s'inspirant des travaux de STEWARD (113) mettait au point une technique soigneusement standardisée permettant d'obtenir une unification des essais et des résultats régulièrement reproductibles. C'est cette technique qu'il utilise depuis dans son laboratoire, que nous avons à notre tour mise en oeuvre pour nos essais.

A côté de ces méthodes "in vivo", certains auteurs ont essayé d'utiliser des techniques in vitro. En effet, les méthodes in vitro présentent l'avantage d'une mise en oeuvre plus simple et d'une possibilité de dosage très exact de la drogue à essayer.

SEN et HAWKING (106) décrivirent, en 1960, une technique simple et rapide : ils déterminent la concentration minimum de substance nécessaire pour tuer, en 24 heures, Hymenolepis nana maintenu en survie dans un milieu dont ils donnent la composition.

En 1962, CAVIER et NOTTEGHEM (25) reprenaient ces essais et retrouvaient à peu près les mêmes résultats. Ils concluaient à l'intérêt de cette méthode lors d'un premier travail de tri parmi de nombreux composés. Toutefois, ils considèrent que, en dépit de ses avantages pratiques, cette méthode d'essai "in vitro" ne saurait pour une investigation plus approfondie, supplanter la technique "in vivo" qu'ils continuent à employer et qui leur donne toute satisfaction.

oOo

TABLEAU IV

Action du Stannoxyl (*) (à la dose de 500 mg/kg x 4 jours)

Sur Hymenolepis nana à differents stades de son développement.

Age du parasite au premier jour du traitement	traités			témoins	
	N. de souris traitées	N. de souris déparasitées	N. moyen de vers/sour.	N. de souris	N. moyen de vers souris
- 1 jour	17	0	90	21	91
24 h.	19	0	72	17	76
5 jours	11	0	44	14	37
23 jours	10	0	62	10	93

(*) Stannoxyl (Robert et Carrière)

Etain = 0,106 g
Oxyde d'étain = 0,018 g
} pour un comprimé

2 - TRAVAUX PERSONNELS A PROPOS DE L'ACTION DES "TENICIDES" SUR HYMENOLEPIS NANA VARIETE FRATERNA

Nous avons vu qu'au cours de son développement le Cestode passait par différents stades : embryon hexacanthe, cysticercoïde chez la Souris ou chez l'Insecte adulte.

Cette série de transformations constitue, pour le parasite, plus qu'une simple croissance : la morphologie et la biologie changent de façon radicale à chaque étape.

Il est logique de penser que chacune des formes prises par le Cestode réagit à sa façon vis-à-vis de l'agression par les ténicides.

Nous avons cherché à mettre en évidence ces différences éventuelles de comportement en faisant agir différentes drogues ténicides sur le parasite à chacun des stades de son développement.

- action sur l'oeuf,
- action sur le cysticercoïde chez la souris,
- action sur le cysticercoïde chez l'insecte,
- action sur l'adulte.

A - ACTION SUR LES OEUFS

En 1960, PIRINGER, LUQUE et MEZEY (80) essayaient l'action de divers ténicides sur les oeufs d'Hymenolepis nana var. fraterna in vitro. Ils opéraient sur des suspensions, dans du soluté isotonique de chlorure de sodium, de fèces obtenues à partir d'animaux parasités et qu'ils additionnaient de solutions diluées de divers ténicides. Ils suivaient au microscope les modifications de structure des oeufs. Suivant les drogues essayées et pour une même drogue, suivant les concentrations utilisées, ils distinguaient deux types d'action.

1) - La membrane vitelline se décolle en partie de l'enveloppe externe, puis l'oncosphère se contracte et on assiste à une désorganisation progressive de la structure, avec apparition d'une coloration brune. Ces phénomènes se passent en 1 à 2 heures.

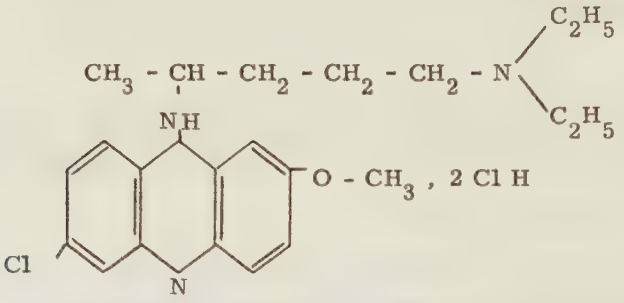
2) - On observe d'abord un gonflement de la membrane externe, puis une lente explosion de la substance protéique hyaline et enfin la désorganisation interne de l'embryon hexacanthe.

Ils essayèrent ainsi divers ténicides :

- l'hexylrésorcinol,
- la ficine et
- la papaïne

Nous avons essayé de la même manière la mépacrine qui possède un fort pouvoir ténicide et dont la couleur permet de suivre aisément la diffusion.

- MEPACRINE = dichlorhydrate de-chloro-6-diéthylamino-pentyla-
(* Quinacrine Spécia). mino-9-méthoxy-2-acridine



Les selles, obtenues à partir de souris fortement parasitées, ont été mises en suspension dans du soluté isotonique de chlorure de sodium par trituration au mortier. La suspension obtenue a été additionnée d'un volume égal d'une solution de mépacrine à 2 % dans du soluté isotonique de chlorure de sodium afin d'avoir une concentration finale de 1 %.

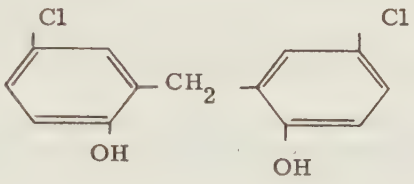
Les oeufs ont été examinés au microscope toutes les demi-heures pendant 3 heures. Peu à peu, la coque se colore en jaune, mais la drogue ne semble pas franchir l'embryophore : l'embryon reste incolore. A part cette imprégnation des membranes externes, nous n'avons observé aucune des modifications décrites plus haut; l'oeuf avait gardé, au bout de 3 heures, un aspect parfaitement normal et de nombreux embryons se montraient mobiles.

B - ACTION SUR LE CYSTICERCOIDE CHEZ LA SOURIS

Nous avons étudié l'action de trois ténicides reconnus sur le stade cysticercoïde au cours du cycle direct du parasite chez la souris.

Deux de ces médicaments : la mépacrine et le dichlorophène (5, 5'-dichloro-2-2'-dihydroxy-diphényl-méthane)(1) ont été choisis en raison de leur action nette, aux doses employées, sur le stade adulte d'Hymenolepis nana var. fraterna. Le troisième était une préparation de sels d'étain (Stannoxyl *), nous avons vu plus haut que nous n'avons pas retrouvé, pour cette dernière drogue, de pouvoir toxique sur le parasite adulte

Dichlorophène =



Pour cette étude, nous avons utilisé des souris infestées par des oeufs d'Hymenolepis nana suivant la technique décrite plus haut.

Les drogues à essayer, mises en solution dans l'eau distillée, sont administrées par voie buccale à l'aide d'une petite canule oesophagienne montée sur une seringue à insuline.

Les quantités à administrer étant calculées en mg par kg de souris, on s'arrange pour avoir une concentration telle qu'il faille administrer 0, 20 ml de solution par souris, 20 g étant le poids moyen des souris au moment de leur infestation. Les substances insolubles sont mises en suspension dans un mélange à parties égales de sirop de gomme et d'eau.

Les drogues ont été administrées la veille, puis le jour de l'infestation et les deux jours suivants, c'est-à-dire en tout pendant 4 jours, avec ainsi possibilité d'action sur les stades embryon hexacanthe, libre et cysticercoïde.

- Contrôles

Les souris sont sacrifiées :

- soit au 4ème jour de l'infestation, juste avant la sortie du parasite hors des villosités. Les cysticercoïdes sont alors comp-

(1) Nous remercions les Laboratoires Genevrier qui nous ont fourni aimablement le dichlorophène (* Plath-lyse).

tés sur toute la longueur de l'intestin grêle, suivant la technique de HUNNINEN (53).

- soit au bout de 15 jours. On examine alors le dernier tiers du grêle après l'avoir ouvert dans une boite de Pétri contenant du soluté isotonique de chlorure de sodium : on compte les scolex qui se sont détachés ainsi que les cestodes qui sont restés accrochés à la muqueuse.

Nous avons pu vérifier que les deux méthodes de contrôle donnaient des résultats équivalents. Par la suite, nous avons retenu la première qui nous permettait de vérifier si le lot de souris employé n'était pas déjà infesté.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau V.

Nous voyons qu'aucune des trois drogues essayées ne s'est montrée active sur le parasite.

Contrairement à ce qu'écrivaient, en 1941, CULBERTSON et GREENFIELD (29), à propos de la mépacrine, il ne nous semble donc pas que les ténicides aient une action sur le stade cysticercoïde.

On pourrait croire que ceci est dû au fait que le cysticercoïde occupe une position fortifiée au sein des tissus. Cela semble vraisemblable pour les ténicides peu ou pas solubles comme le dichlorophène qui, de par son insolubilité ne doit pas diffuser beaucoup en dehors du tube digestif.

Mais la mépacrine, assez soluble, diffuse largement dans tout l'organisme. Les tissus des animaux traités, et en particulier la muqueuse intestinale, sont toujours intensément colorés en jaune. A priori, ils ne semblent donc pas constituer une barrière bien efficace au passage de la drogue.

En tout cas, si sa position retranchée au sein des tissus de l'hôte lui vaut d'être protégé contre l'action des ténicides, le cysticercoïde doit alors devenir sensible lorsque l'on supprime cet obstacle. Or, chez l'Insecte, cet obstacle n'existe pas puisque le parasite s'y trouve à l'état libre dans la cavité générale. Nous avons donc essayé l'action des ténicides sur cette dernière forme larvaire, d'une part "in vitro", d'autre part "in vivo", en introduisant la drogue à essayer chez l'hôte.

TABLEAU V

Action des ténicides sur le stade cysticercoïde chez la Souris

Drogues Essayées	TRAITES			TEMOINS	
	Nombre de souris traitées	Nb. de souris déparasitées	Nb. moyen de cysticercoïdes / souris	Nb. de souris	Nb. moyen de cysticerc. souris
MEPACRINE 200 mg/kg/4j	21	0	53	18	56
DICHLOROPHENE 200 mg/ kg/4j	17	0	96	17	68
STANNOXYL 500 mg/kg/4 j	17	0	90	21	91

C - ACTION SUR LE CYSTICERCOIDE CHEZ L'INSECTE

Ces essais pharmacodynamiques ont été menés "in vitro" et "in vivo".

A - Essais "in vitro"

Les méthodes d'essai "in vitro" ont tenté bien des pharmacologues. STRAUB essayait déjà en 1902, d'apprécier "in vitro" l'activité d'extraits éthérés de fougère mâle sur des cestodes du Chat. A sa suite, de nombreux auteurs (REBELLO, GOMES DA COSTA, et TOSCANO-RICO (88) DUGUID et HEATHCOTE (31-32), FEUGEAS (35) essayaient d'utiliser de la même façon divers cestodes : Taenia saginata, Taenia serrata, Dipylidium caninum, Monezia expansa.

La difficulté est d'obtenir un temps de survie suffisant pour que les essais avec les ténicides puissent être significatifs.

Rappelons qu'en 1960, SEN et HAWKING (106) et à leur suite CAVIER et NOTTEGHEM (25) ont proposé une technique d'essai simple et rapide utilisant des adultes d'Hymenolepis nana var. fraterna.

Nous avons déjà vu que, contrairement aux cestodes adultes, les cysticercoïdes d'Hymenolepis nana se conservaient mal dans le milieu de SEN et HAWKING. En revanche, on obtient des survies de 5 à 7 jours dans le milieu glucosé proposé par TAYLOR (118). C'est donc ce dernier milieu que nous avons retenu pour nos essais.

Les produits à essayer sont dissous ou mis en suspension dans le liquide. La solution est répartie dans de petits cristallisoirs bouchant hermétiquement à raison de 5 ml par cristallisoir. Les cysticercoïdes sont obtenus par dissection, dans le milieu de conservation, de ténébrions infestés depuis 6 jours. Ils sont ensuite transportés un à un dans les solutions à essayer.

Pour chaque substance, on détermine la concentration minimum léthale en 24 heures et, pour chaque série d'essai, quelques cysticercoïdes sont conservés dans le milieu de survie pur et servent de témoins.

Dans un premier temps, le cysticercoïde mort s'immobilise, puis on assiste à la rapide désorganisation interne du scolex : les tissus prennent un aspect granuleux caractéristique et les crochets se dispersent. C'est ce dernier aspect, très facile à saisir, que nous avons pris comme critère de toxicité lors de nos essais.

Nous avons essayé de cette façon deux ténicides : mépacrine et dichlorophène.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

- MEPACRINE

Concentrations	Aspect des cysticercoïdes au bout de 24 heures
1/2.000	morts
1/5.000	morts
1/10.000	morts
1/20.000	immobiles, mais structure encore visible
1/200.000	vivants
1/2.000.000	vivants
Témoins	vivants

- DICHLOROPHENE

1/20.000	morts
1/200.000	morts
1/2.000.000	légèrement mobiles
1/20.000.000	vivants
Témoins	Vivants

Nous voyons donc que les concentrations actives sur les cysticercoïdes sont de 1 p. 10.000 pour la mépacrine et de 1 p. 200.000 pour le dichlorophène.

Or, les doses toxiques pour les cestodes adultes sont de 1/100.000 (SEN et HAWKING - 106) ou 1/400.000 (CAVIER et NOTTEGHEN (25), pour la mépacrine.

1/2.000.000 (SEN et HAWKING - 106, CAVIER et NOTTEGHEM (25), pour le dichlorophène.

Le cysticercoïde semble donc être plus résistant que l'adulte à l'action des ténicides ; la différence est surtout nette pour la mépacrine.

B - Essais "in vivo"

Nous avons utilisé pour ces essais des ténébrions infestés par la méthode précédemment décrite.

- Introduction des drogues par la voie buccale

Dans un premier temps, nous avons tenté d'administrer le produit à essayer par la voie buccale. Nous l'avons intimement mélangé à de la farine. Les ténébrions infestés depuis 6 jours, maintenus à l'étuve à 30° et laissés à jeun depuis 1 à 5 jours, ont été mis en présence du mélange durant 24 à 48 heures.

Pour chaque essai, nous avons réservé un lot de témoins, infestés de la même manière et non soumis au traitement.

Ténébrions infestés puis traités et témoins ont été sacrifiés 48 heures après arrêt du traitement. Pour chaque insecte, nous avons déterminé le nombre de cysticercoïdes vivants contenus dans la cavité générale et nous avons examiné leur aspect au microscope entre lame et lamelle. Deux drogues ont été essayées de cette manière : la mépacrine et le dichlorophène.

Cinq ténébrions ont été traités par le dichlorophène et deux par mépacrine, tous hébergeaient lors du contrôle un très grand nombre de cysticercoïdes, comparables à ce que nous avons trouvé chez les témoins.

Comment expliquer l'inefficacité de ces drogues ? Les parois du tube digestif s'opposaient-elles à leur passage ?

Il fallait, pour s'en assurer, mettre ces drogues directement en contact avec les cysticercoïdes. Nous décidâmes d'utiliser un autre mode d'administration, plus logique..

- Introduction des drogues par voie parentérale

Nous étions sûre de mettre ainsi nos médicaments directement au contact des cysticercoïdes et d'éviter les transformations qu'ils pourraient éventuellement subir au cours du transit intestinal chez l'insecte. De plus, cette voie d'introduction nous permettait un dosage exact des quantités d'anthelminthique administrées.

La technique utilisée pour l'injection est la suivante :

Nous employons une petite aiguille de 5/10è montée sur une seringue de 2 ml., à graduation précise, type seringue à insuline. Nous pratiquons l'injection entre deux sternites abdominaux, en général entre le 4è et le 5è. Suivant la taille de l'insecte, on peut

de cette manière, injecter 3/100è à 5/100è de ml. Le ténébrion supporte très bien de telles injections : l'abdomen, d'abord distendu, revient à son volume initial en 24 heures.

Le produit à l'essai est mis en solution s'il est soluble ou en suspension s'il est insoluble, dans la solution de chlorure de sodium à 9 °/₀₀.

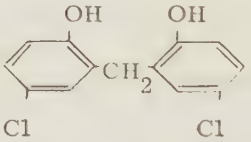
Nos essais portaient, au début, sur 4 ténicides, considérés, à l'heure actuelle, comme les plus actifs :

- l'extrait éthéré de fougère mâle,
- le dichlorophène,
- la niclosamide (hydroxy-2-chloro 5-N (chloro 2 - nitro 4 Phényl) benzamide (1)
- la mépacrine.

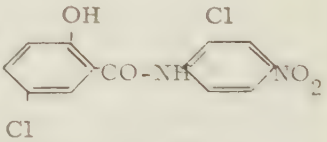
Dans un premier temps, nous avons procédé à des essais de toxicité sur des ténébrions non infestés. Les trois premiers produits se sont montrés extrêmement toxiques pour les insectes. Avec le dichlorophène et la niclosamide, nous obtenions près de 100 % de mortalité, même avec les concentrations très faibles de 1/200.000 dans les deux cas.

D'ailleurs, le simple examen de la formule de ces deux corps :

Dichlorophène

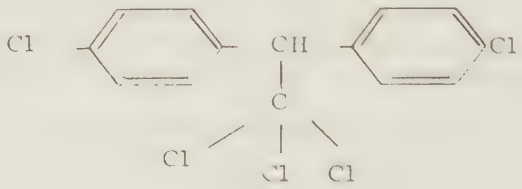


Niclosamide



qui présentent une certaine analogie avec les insecticides du type D.D.T. nous avait fait craindre ces résultats :

D.D.T.



(1) Nous remercions les Laboratoires Bouillet qui nous ont fourni aimablement la niclosamide (* TREDEMINE).

En revanche, avec la mépacrine, l'effet toxique ne commence à se manifester qu'à la concentration de 1/100, et l'injection d'une solution à 1/200 est très bien supportée par les animaux. Les ténébrions ont un poids voisin de 0,100 g. L'injection de 5/100è de ml par ténébrion correspond à la dose de 0,25 g/kg pour la solution à 1.2.000 et de 2,5 g/kg. pour la solution à 1/200. Or, la dose de mépacrine active à 100 % sur les cestodes adultes chez la souris parasitée est de 0,800 g/kg. Nous voyons qu'il nous est facile de nous placer dans des conditions analogues chez le Ténébrion.

A la suite de ces essais préliminaires, c'est donc la seule mépacrine que nous avons retenue pour en rechercher l'action sur les cysticercoïdes de l'insecte.

Nos essais ont été menés de la façon suivante :

. des ténébrions infestés depuis 5 jours sont injectés avec 5/100è de ml d'une solution de mépacrine à 1/200 dans le soluté de chlorure de sodium à 9 °/$_{oo}$.

. Un second lot d'insectes infestés mais non traités est conservé comme témoin. Les ténébrions sont remis à l'étuve à 30° C et sacrifiés le lendemain du traitement. On les dissèque un à un dans une boite de Pétri à fond quadrillé, contenant du soluté isotonique de chlorure de sodium, et les cysticercoïdes sont recherchés à la loupe binoculaire et comptés.

Nous n'avons pas constaté de différences significatives entre les témoins et les animaux traités.

Nous avons pensé que cela était peut être dû au fait que nous travaillions avec des cysticercoïdes âgés de 5 jours et, par conséquent, déjà invaginés. Peut être la capsule entourant le scolex jouait-elle le rôle de barrière défensive ?

VOGE (122 - 123 - 130) étudiant la sensibilité des larves d'Hymenolepis diminuta aux températures élevées, note que le maximum de sensibilité, se traduisant, chez la larve par l'absence d'invagination du scolex et la perte du pouvoir infestant pour la souris, se situe entre le 3è et le 5è jour suivant le repas infestant. Les larves complètement développées ne sont plus sensibles aux températures élevées et restent infestantes. Nous avons pensé qu'il en était peut être de même en ce qui concerne l'action des drogues.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons administré la mépacrine à des temps variables après l'infestation. Dans tous les cas, les ténébrions ont été examinés au 6è jour de l'infestation, le critère d'efficacité recherché étant la mort des cysticercoïdes, l'arrêt du développement ou l'absence d'invagination.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau VII

Si nous comparons la proportion d'animaux parasités dans les lots témoins et dans les lots traités, nous voyons que les pourcentages obtenus sont identiques, compte tenu du faible nombre d'animaux sur lequel nous opérions, et cela quel que soit l'âge des larves soumises à l'action de l'Atébrine. Dans tous les cas, la réalité de l'injection a pu être vérifiée par le fait que tous les tissus de l'insecte étaient fortement colorés en jaune par la mépacrine.

Ainsi donc, les deux cysticercoïdes : celui que l'on rencontre chez les Rongeurs et celui que l'on rencontre chez les Insectes, se montrent particulièrement résistants "in vivo", à l'action de la mépacrine dont l'effet toxique sur la forme adulte du parasite est reconnue.

Si, pour la première de ces deux formes larvaires, on peut invoquer l'effet protecteur des tissus environnants, cet argument n'est plus valable lorsqu'on considère la seconde qui se trouve libre dans la cavité générale de l'insecte et qui est véritablement immergée dans la solution de ténicide lorsque celle-ci est introduite par voie intra-cavitaire chez l'hôte. Dans ce dernier cas, il ne semble pas que ce soit la capsule fibreuse qui constitue un obstacle, puisque même le jeune cysticercoïde qui n'a pas encore subi l'invagination se montre insensible. Il faut donc admettre que la forme larvaire présente, vis-à-vis de la mépacrine, une résistance qui lui est propre.

D - ACTION SUR LE CESTODE ADULTE

a) - Mode d'action des ténicides

La présence des formes adultes des Cestodes dans le tube digestif de l'Homme détermine ce que l'on appelle le téniasis. C'est ce stade du parasite que la thérapeutique cherche à atteindre.

Quel est le mode d'action intime du médicament sur l'helminthe ?

L'arsenal thérapeutique dont on dispose contre les ténias groupe des substances très variées : il est évident que celles-ci n'agissent pas toutes de la même façon. C'est ainsi que l'on distingue les ténifuges des ténicides proprement dits : les premiers déterminent l'expulsion de l'helminthe entier alors que les seconds en provoque la lyse plus ou moins complète, de telle sorte que la guérison ne peut plus être objectivée par le rejet du parasite entier et vivant et que le seul critère réel d'efficacité est l'absence de récidives.

TABLEAU VII

Age de l'infestation au moment du traitement	INSECTES TEMOINS				INSECTES TRAITES			
	Nombre d'animaux	Nombre d'animaux parasités	% d'animaux parasités	Nbre. moyen cystic. par animal	Nb. animaux traités	Nb. animaux parasités	% animaux parasités	Nb. moyen de cysticercoïdes
0	25	21	84 %	18	13	9	70 %	14
1 jour	26	21	81 %	32	19	12	63 %	48
2 jours	27	22	82 %	62	22	18	82 %	38
3 jours	18	14	78 %	42	4	3	75 %	20
4 jours	4	4	100 %	26	5	4	80 %	39
5 jours	12	12	100 %	29	8	7	88 %	24

Nous avons étudié l'action des drogues appartenant à l'un et l'autre groupe sur la morphologie d'Hymenolepis nana variété fraterna hébergé par des souris traitées.

1) - Action des drogues "ténifuges"

Dans ce groupe, nous avons étudié l'action de deux médicaments d'utilisation courante : la mépacrine et l'extrait éthéré de fougère mâle.

Ces produits ont été administrés à des souris expérimentalement infestées depuis un mois, par la voie buccale, suivant la technique habituelle. Un premier lot d'animaux ont reçu de la mépacrine à raison de 200 mg par kg pendant 4 jours, et un second lot de l'extrait éthéré de fougère mâle à raison de 300 mg par kg pendant 4 jours. Les animaux ont été sacrifiés 24 heures après le dernier jour du traitement et les intestins, ouverts dans du soluté de chlorure de sodium à 9 ‰, examinés à la loupe binoculaire. Avec les doses utilisées, les animaux ne sont que partiellement déparasités :une assez forte proportion de souris hébergent encore des cestodes. Toutefois, un grand nombre de ces derniers montrent des signes de souffrance très nets. Leur aspect est caractéristique : les téguments prennent un aspect plissé "en accordéon" et le parenchyme devient granuleux. Ils se détachent très facilement de la muqueuse intestinale et ne présentent que des mouvements très ralentis ; ces drogues semblent avoir un pouvoir paralysant sur le cestode.

Ceci est à rapprocher des travaux de MUSTAKALLIO et SAIKKONEN (73). Etudiant, au moyen de la microscopie de fluorescence, la répartition de la mépacrine sur des coupes de Taenia saginata rejeté par des porteurs traités, ils observent que le médicament se fixe avec prédilection sur les muscles des ventouses. Pour eux, il se pourrait que la mépacrine neutralisât les forces électrochimiques nécessaires à l'adhésion du cestode à la muqueuse intestinale. Ceci expliquerait alors le fait bien connu que, généralement, le ténia est expulsé entier et encore vivant. Ces auteurs signalent une fixation faible du colorant au niveau du système nerveux et ils éliminent la possibilité d'une action directe à ce niveau. Remarquons qu'ils étudiaient les ténias après leur expulsion et non pas dans leur milieu naturel; il leur était donc impossible d'observer les premiers stigmates de la paralysie que nous pensons avoir saisis lors de nos propres observations.

2 - Action des drogues "ténicides" stricto sensu

Notre étude a porté sur deux ténicides de ce groupe :

- le dichlorophène administré à raison de 200mg/kg pendant 4 jours.

- et la niclosamide administrée à la dose de 250 mg/kg en une fois.

Ici aussi, les doses et le mode d'administration ont été choisis afin de n'obtenir qu'une déparasitation partielle des animaux traités. A l'ouverture des intestins, nous avons tout de suite été frappée par l'aspect des helminthes, très différent de ce que nous avions observé avec les drogues du premier groupe. Leur taille est très inférieure à celle des cestodes recueillis chez les souris non traitées qui nous servaient de témoins. L'examen au microscope, entre lame et lamelle, montrait qu'il ne s'agissait pas de formes jeunes mais d'adultes ayant perdu la quasi-totalité de leur chaîne d'anneaux ; à la partie postérieure, chacun des deux canaux excréteurs s'ouvrait par un pore indépendant. Cette extrémité postérieure avait un aspect différent suivant la drogue essayée : les cestodes soumis à l'action du dichlorophène présentaient une extrémité tronquée ou prolongée chez certains spécimens par une formation en bouton. Avec la niclosamide, on observait chez de nombreux sujets un bouquet de digitations terminales.

Dans les deux cas, il est évident que le ténicide s'attaque à l'extrémité postérieure de l'helminthe, laissant le scolex intacte, du moins au début de son action. En effet, tous ces exemplaires "raccourcis" avaient une vitalité comparable à celle des témoins. Ils présentaient une grande activité. Beaucoup ne se détachaient que difficilement de la muqueuse alors que certains restaient profondément enfoncés au sein du mucus, entre les villosités intestinales.

Ceci montre l'insuffisance d'un contrôle qui se bornerait à compter les scolex libres après agitation des fragments d'iléon dans du soluté isotonique de chlorure de sodium. Echappent à ce contrôle tous les scolex enfouis dans la muqueuse et qui, privés de la plus grande partie de leurs proglottis, ne sont pas visibles à l'oeil nu. Lors des essais pharmacodynamiques, il est indispensable d'examiner minutieusement la muqueuse intestinale à la loupe binoculaire.

D'autre part, ceci explique la possibilité de récidives chez les malades traités par des ténicides de ce type.

Or, de telles récidives ne sont pas rares avec le dichlorophène. Dans ce cas, grâce à sa position de repli au milieu des villosités intestinales, le scolex échapperait à l'action du médicament, en conservant toutes ses potentialités de régénération.

Il se peut également que ce soit là un comportement propre à Hymenolepis nana. Ceci expliquerait alors les échecs enregistrés par DEBLOCK et CAFFIER (30) dans le traitement, par le dichlorophène, du téniasis humain à Hymenolepis nana.

b) - Action des ténicides en fonction de l'ancienneté de l'infestation

Nous avons vu que les ténicides ne semblaient pas être très actifs sur le stade cysticercoïde d'Hymenolepis nana.

En thérapeutique, ces drogues sont appelées à agir sur les cestodes adultes et sexuellement mûrs, puisque le parasitisme ne se révèle qu'à ce stade par l'expulsion des proglottis gravides.

De même, les essais pharmacodynamiques "in vivo" s'effectuent sur des parasites âgés d'environ un mois, l'infestation des souris étant préalablement vérifiée par la recherche des oeufs dans les matières fécales.

Mais la question se pose de savoir si ces produits se montrent tout aussi actifs sur les jeunes adultes. C'est là d'ailleurs un problème très général pour le pharmacologue . En 1963, ROMAN (95), recherchant la cause de l'insuccès de nombreux oxyuricides, parle de la "faible efficacité de maint vermifuge vis-à-vis des immatures". Il essaie systématiquement un certain nombre d'anthelminthiques, en surveillant l'expulsion des oxyures. Il retrouve leur activité normale vis-à-vis des femelles gravides, mais note qu'ils ne présentent qu'un faible pouvoir anthelminthique à l'égard des formes jeunes du nématode.

Nous avons étudié l'activité de la mépacrine, avec laquelle nous avions effectué la plupart des expériences sur le stade cysticercoïde, sur des cestodes d'âge variable.

La mépacrine a été administrée à raison de 200 mg/kg pendant 4 jours consécutifs. Cette dose a été choisie de façon à se placer dans une zone où la déparasitation des animaux n'est que partielle : ceci nous permettait de mettre en évidence une variation éventuelle du pouvoir anthelminthique en fonction de l'âge de l'infestation.

Les souris ont été sacrifiées le lendemain du dernier jour du traitement. Le dernier tiers de l'intestin grêle a été examiné minutieusement à la loupe binoculaire et les cestodes ont été comptés un à un.

De cette façon, nous avons déterminé pour chaque lot :

- le pourcentage d'animaux totalement déparasités,
- le nombre moyen de cestodes par souris.

Pour chaque série, nous avons examiné de la même manière un lot d'animaux témoins parasités en même temps que les animaux soumis au traitement. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau VIII. Bien que la densité parasitaire soit très inférieure à celle constatée chez les témoins, le pourcentage d'animaux déparasités, dans le lot traité aux 5è, 6è, 7è et 8è jours de l'infestation, est particulièrement faible.

Par comparaison avec les résultats obtenus avec des infestations plus anciennes, il semble bien que les jeunes adultes se montrent relativement plus résistants que les sujets plus âgés à l'action de la mépacrine. Nous avons fait figurer dans ce tableau les résultats obtenus en faisant agir la mépacrine sur le stade cysticercoïde. Nous retrouvons l'innocuité du ténicide pour cette forme du parasite : aucune souris n'a été déparasitée et le nombre moyen de cysticercoïdes retrouvés chez les animaux traités et chez les témoins est identique.

oOo

TABLEAU VIII

Action de la mépacrine (à la dose de 200 mg. kg x 4 jours)
sur Hymenolepis nana à différents stades de son développement

Age des parasites en début de traitement	TRAITES			TEMOINS	
	Nbre de souris traitées	Nre et % de souris déparasitées	Nbre moyen de vers / souris	Nombre de souris	Nbre moyen de vers/souris
- 1 jour (action sur le stade cysticercoïde)	21	0 soit 0 %	53	18	56
5 jours	20	1 soit 5 %	6	20	163
13 jours	21	9 soit envir. 45 %	40	20	148
23 jours	8	5 soit env. 60 %	2	8	14

CONCLUSIONS DE NOS TRAVAUX SUR L'ACTION DES TENICIDES.

1 - Le parasite ne se montre pas également sensible à l'action des ténicides, à tous les stades de son développement.

Des drogues possédant une action certaine sur le stade adulte se sont révélées absolument inactives sur les cysticercoïdes, aussi bien chez la Souris que chez les Insectes vecteurs.

De même, il semblerait que les jeunes adultes soient moins sensibles à l'action de la mépacrine que les parasites âgés.

2 - L'action des ténicides sur le Cestode adulte n'est pas univoque.

Certaines des drogues essayées (mépacrine, extrait éthéré de fougère mâle) semblent exercer une action paralysante globale sur le parasite dont les ventouses et les crochets ne peuvent plus assurer leur rôle de fixation sur la muqueuse intestinale et qui, de ce fait, sont expulsés avec les matières fécales.

D'autres drogues (dichlorophène, niclosamide) s'attaquent électivement à l'extrémité distale du parasite dont elles provoquent la lyse progressive, le scolex restant, du moins au début, intact et bien actif.

Ces données expliquent peut être, dans une certaine mesure, l'inefficacité relative de certains ténicides sur les ténias de l'Homme, encore que la transposition d'un parasite à l'autre soit toujours délicate.

oOo

CONCLUSIONS

Le travail que nous venons d'exposer nous a permis de faire le point sur certains aspects de la biologie d'Hymenolepis nana variété fraterna. La morphologie et le développement du parasite sont actuellement bien connus.

Nous avons tenté d'apporter notre contribution personnelle dans deux domaines principaux.

1 - L'étude des hôtes intermédiaires nous a entraînée à envisager la spécificité parasitaire et les réactions de défense chez l'insecte.

Nous avons découvert le rôle possible du Grillon domestique, Gryllus domesticus, dans la transmission du parasite aux rongeurs. Cet insecte vient s'ajouter à la liste des hôtes intermédiaires déjà connus. D'autre part, grâce à un artifice expérimental, nous avons réussi à parasiter des blattes (Periplaneta et Leucophaea) sur lesquelles avaient échoué tous les essais antérieurs d'infestation.

La recherche de réactions chez l'insecte nous a longuement retenue. Il nous a été impossible de retrouver, chez les hôtes normaux (Tenebrio molitor et Gryllus domesticus) la formation de capsules et la mélanisation si souvent décrites chez les insectes au cours de diverses parasitoses. En revanche, nous avons observé des phénomènes comparables chez les hôtes expérimentaux non infestables par la voie buccale.

Nous nous proposons de poursuivre l'étude de la nature et de la genèse des formations mises en évidence.

Il pourrait s'agir là d'un problème d'une portée générale, intéressant tous les insectes et tous leurs parasites. La réponse à l'agression parasitaire serait-elle fonction de l'adaptation plus ou moins étroite du parasite à son hôte ?

2 - Dans un second temps, nous avons entrepris une analyse de l'action des ténicides sur Hymenolepis nana, parasite fréquemment utilisé pour les essais pharmacodynamiques de ces drogues.

Nous nous sommes attachée :

- d'une part à l'étude de leur mode d'action ce qui nous a permis de distinguer deux groupes parmi les drogues étudiées :

. les ténicides qui semblent provoquer une paralysie générale et,

. ceux qui exerceraient de l'extérieur une action lysante progressive sur l'helminthe.

- d'autre part, l'étude de l'action de la mépacrine aux différents stades du parasite nous a montré:

. que les oeufs semblent être protégés de son atteinte par leur embryophore,

. que le cysticercoïde y est peu sensible, même si on élimine, comme chez l'insecte, le rôle protecteur des tissus au sein desquels se développe la larve,

. que les très jeunes adultes seraient légèrement moins sensibles que les plus âgés.

Malgré les nombreux travaux qui lui ont été consacrés, bien des domaines de la biologie d'Hymenolepis nana var. fraterna restent encore à explorer.

oOo

Vu, le Président de Thèse :
Pr CAVIER

Vu, le Doyen de la Faculté :
Pr VALETTE

Vu et Permis d'Imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris

Jean ROCHE.

BIBLIOGRAPHIE.

1 - BACIGALUPO (J.)

Estudio sobre la evolucion biologica de algunos parasitos del genero Hymenolepis (WEINLAND, 1858)
Semana Medica, Buenos-Aires 1928, 2, 1249-1267

2 - BACIGALUPO (J.)

Hymenolepis nana von Siebold 1859 et Hymenolepis fraterna Stiles 1906 -
C.R. Soc. Biol. 1929, CII, 1102

3 - BACIGALUPO (J.)

Evolution de l'hymenolepis fraterna Stiles chez Pulex irritans L., Xenopsylla cheopis Rotschild et Ctenocephalus canis Curtis.
Ann. Parasitol. 1931, IX, 339/343

4 - BACIGALUPO (J.)

Alguna considerationes solere teniasis per Hymenolepis nana.
Arch. Argentinas Enfermedades 1932, VII, 339-364

5 - BADALYAN (A.L.)

Rezistentnost'k superinvozii pri gimenolepidoze v opytakh na belykh myshakh (Résistance to experimental hymenolepidosis in hyperinfected white mice).
- In : Raboty pagel, mintologii (Helminthological proceeding). Akad Nauk SSSR Moscow. 1958, 50/44, referat. Zhur. biol. 1960

6 - BAER (J.G.)

Immunité et réactions immunitaires chez les invertébrés.
Schweiz. Z. Path. 1944, 7, 442-462

7 - BAILENGER (J.), BAUDOUIN (M.), et PAUTRIZEL (R.)

Etude de l'immunité des rongeurs à l'égard d'Hymenolepis nana (Von Siebold 1852, Blanchard 1891). Ann. de Parasitol. humaine et comparée, 1961, XXXVI, 4, 595 610

8 - BAILENGER (J.), ROGER (R.), et PAUTRIZEL (R.)

Etude de l'immunité des rongeurs à l'égard d'Hymenolepis nana. Facteurs spécifiques et aspecifiques.
Ann. de Parasitol. 1964, 39, n° 1, 33-52

9 - BAILEY (W.S.)

Observation on the role of Tenebrio molitor as an intermediate host of Hymenolepis nana var. fraterna.
J. Parasitol., 1947, 33, (5), 433-434

10 - BAILEY (W.S.)

Studies on the host-parasite relations of Hymenolepis nana var. fraterna.
J. Parasitol. 1950, 36 (6 sect. 2), supp. 31

11 - BERNTZGEN (A.K.)

An effective method for the in vitro cultivation of Hymenolepis diminuta.
J. Parasitol. 1960, 46, (sect. 2), 47

12 - BERNTZGEN (A.K.) et VOGE (M.)

In vitro hatching of onchospheres of Hymenolepis nana and Hymenolepis citelli.
Journ. Parasitol. 1962, 48, n° 1 (Febr.) 110-119

13 - BLANCHARD (R.)

Histoire zoologique et médicale des téniadés du genre Hymenolepis
Weinland, 1891, in - 8° de 112 p. Société Editions Scientifiques, Paris

14 - BRUMPT (E.)

Présentation de préparations microscopiques : B - Coupe d'intestin grêle d'une jeune souris infestée spontanément par Hymenolepis nana var. fraterna.
Bull. Soc. Pathol. Exot. 1932, XXV 99-100

15 - BRUMPT (E.)

Evolution de l'Hymenolepis nana var. fraterna. Les deux cysticercoïdes. Leur importance biologique concernant l'origine du parasitisme et la signification des hôtes intermédiaires.
Arch. de Zool. exp. et Gén. 1933, LXXV (13), 235-246

16 - BRUMPT (E.)

Précis de parasitologie, 1949, 6è édition, vol I, 1042 p.

17 - CANTACUZENE (J.)

Le problème de l'immunité chez les invertébrés.
C.R. Soc. Biol. Paris 1923 (célèbr. 75è année) 48-119

18 - CASTEL (P.), HARANT (H.), et GRAS (G.)

Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 1954, 14, 253

19 - CASTEL (P.), HARANT (H.) et GRAS (G.)

Trav. Soc. Pharm. Montpellier, 1954, 14, 255

20 - CASTEL (P.), HARANT (H.) et GRAS (G.)

Thérapie, 1958, 13, 843

21 - CAVIER (R.)

Ann. Pharm. fr. 1956, 14, 545

22 - CAVIER (R.)

Les méthodes pharmacodynamiques d'essai des anthelminthiques.
Techn. Pharm. 1957, n° 2
(Journées pharmaceutiques française, 1 - 7 oct. 1956)

23 - CAVIER (R.)

Acquisitions récentes dans la thérapeutique des helminthiases intestinales.
Biol. Med. 1960, XLIX (n°2), 201-262

24 - CAVIER (R.)

Recherches sur le pouvoir anthelminthique d'une association : étain + pipérazine.
Ann. Pharm. Francaises, 1963, 21, n°4, 309-312

25 - CAVIER (R.) et NOTTEGHEM (M.J.)

Sur une méthode d'essai in vitro des ténicides.
Ann. Pharm. fr. 1962, 20, 894-898

26 - CHEN (H.T.)

Réactions of Ctenocephalides felis to Dipylidium caninum
Zeitschrift für Parasitenkunde, 1934, VI, (5), 603-637

27 - COLEMAN (R.M.) et DE SA (L.M.)

Host response to implanted adult Hymenolepis nana
J. of Parasitol. 1964, 50, n° 3, sect. 2, Programme de l'am. soc. of Parasitol. Congrès du 24.8.64

28 - CROWLEY (J.)

An in vivo screening method for anthelmintic activity using Hymenolepis nana var. fraterna in mice.
Parasitol. 1961, 51, 339-345

29 - CULBERTSON (J.T.) et GREENFIELD (S.H.)

Effects of Atabrine upon experimental cysticercosis of mice.
J. Pharmacol exp. Thérap. 1941, 73, 159-161

30 - DEBLOCK (S.) et CAFFIER (J.)

Traitement du teniasis par le dichlorophène (Résultats encourageants contre Taenia saginata et nuls contre Hymenolepis nana).
Lille Médical, 1959, IV, n°6, 456-457

31 - DUGUID (A.M.E.) et HEATHCOTE (R.S.A.)

Arch. Intern. Pharmacodyn. 1950, 82, 309

32 - DUGUID (A.M.E.) et HEATHCOTE (R.S.A.)

Arch intern. Pharmacodyn. 1950, 84, 159

33 - DUJARDIN (F.)

Histoire naturelle des Helminthes ou vers intestinaux
1845, Paris in-8° de XVI et 654 p. 12 pl.

34 - EDGARD (S.A.)

Artificial evagination of larval tapeworms.
Trans. Kansas Acad. Sci. 1940, 43, 397-399

35 - FEUGEAS (Cl.)

Thèse Doct. Vétér. Toulouse, 1953, n°37

36 - GARKAVI (B. L.)

Myshi promezhutochnye khozyoewa trepnya hymenolepis nana (Stiles 1906) (mice the intermediate host of hymenolepis fraterna - Stiles 1906) - In : Raboty pagel' mintologii. Akad. Nauk. SSSR Moscow 1958, 93-95

37 - GRAS (G.)

Thèse Doct. Pharm. Montpellier, 1956, n° 365

38 - GRASSI (B.)

Entwicklungs cyclus der Taenia nana.
Centrabl. f. Bakteriologie u Parasitenkunde, 1887, II, 305-312

39 - GRASSI (B.) et ROVELLEI (G.)

Ricerche embriologiche sui cestodi
1892, Catania, in-4° de 110 p. et 4 pl.

40 - GRAYBILL (H.W.)

The life history of Hymenolepis nana var. Siebold.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1924, XVIII, 217-218

41 - GREEN (N.K.) et WARDLE (R.A.)

The cultivation of tapeworms in artificial media
Canad. J. Res. 1941, 19 D, 240-244

42 - GUILHON (J.) et GRABER (M.)

Action du dichlorophène sur les cestodes du poulet.
Bull. de l'Acad. Vet. France, 1963, 36 (5), 249-251

43 - HARANT (H.) CASTEL (P.) et GRAS (G.)

Montpellier Médical, 1956, 49, 432

44 - HEARIN (J.T.)

Studies on the acquired immunity to dwarftapeworm Hymenolepis nana var. fraterna in the mouse host.
Amer. J. Hyg. 1941, 3, Section D, 71-87

45 - HEYNEMAN (D.)

Cross immune protection against Hymenolepis diminuta by H. nana in white mice.
J. Parasitol. 1953, 39, (4, second section), 28

46 - HEYNEMAN (D.)

Studies on immunity induced by the dwarf mouse tape worm : Hymenolepis nana, in white mice and rats
Thèse 1954, The rice institute, Houston, Texas.

47 - HEYNEMAN (D.)

Studies on helminth immunity : I - Comparison between lumenal and tissue phases of infection in the white mouse by Hymenolepis nana
The Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1962, 11, 46-63

48 - HEYNEMAN (D.) WELSH (J.F.)

Action of homologous antiserum in vitro against life cycle stages of Hymenolepis nana, the dwarf mouse tapeworm.
Exp. Parasitol. 1959, 8, 119-128

49 - HEYNEMAN (D.) WELSH (J.F.) et VOGE (M.)

Infectivity of excysted cysticercoïds of Hymenolepis nana.
J. Parasitol. 1958, 44, n°4 (aug.), 443

50 - HILL (G.F.)

Relationship of insects to parasitic deseases.
Stock Proc. Roy. Soc. Vict. 1918, 31, 11-107

51 - HOLTON (P.)

Brit. Jour. Pharmacol. 1942, 2, 100

52 - HUFF (C.G.)

Immunity of invertebrates.
Physiol. Rev. 1940, 20, 68-88

53 - HUNNINEN (A.V.)

A method of demonstrating cysticercoïds of Hymenolepis fraterna (H. nana var. fraterna Stiles) in the intestinal villi of mice,
J. Parasitol. 1935, 21, 124

54 - HUNNINEN (A.V.)

Studies on the life history and host-parasite relations of Hymenolepis fraterna (H. nana var. fraterna Stiles) in white mice.
Amer. J. Hyg. 1935, 22, 414-443

55 - HUNNINEN (A.V.)

Infection of abnormal hosts with the mouse stain of Hymenolepis fraterna
J. Parasitol. 1935, 21, 312

56 - HUNNINEN (A.V.)

An experimental study of internal auto-infection with Hymenolepis fraterna in white mice.
J. Parasitol. 1936, 22, 84-87

57 - JOYEUX (Ch.)

Hymenolepis nana (v. Siebold 1852) et Hymenolepis nana var. fraterna (Stiles 1906),
Bull. de la Soc. Path. exot. 1912, 12, 228

58 - JOYEUX (Ch.)

Sur le cycle évolutif de quelques cestodes.
Bull. de la Soc. Path. Exot. 1916, 8, 578

59 - JOYEUX (Ch.)

Cycle évolutif de quelques cestodes.
Recherches expérimentales. Bull. Biol. de France et de Belgique 1920, supp. 2

60 - JOYEUX (Ch.)

Hymenolepis nana et Hymenolepis fraterna
Ann. Parasitol. 1925, 3, 270

61 - JOYEUX (Ch.), et BAER (J.G.)

Recherches sur le cycle évolutif d'Hymenolepis nana Stiles;
C.R. Soc. Biol. 1928, XCIC, 1317

62 - JOYEUX (Ch.) et FOLEY (H.)

Recherches épidémiologiques sur l'Hymenolepis nana et sur l'Hymenolepis fraterna.
Arch. Inst. Pasteur d'Algérie, 1929, 7, 31-50

63 - KIRIBAYASHI (S.)

Studies on the growth of Hymenolepis nana with special reference to the possibility of differenciation of Hymenolepis nana var. fraterna.
Taiwan Ygakai Zasshi, 1933, 32, (9), 117

64 - LANGERON (M.)

Précis de Microscopie, 1949,
Masson Ed. Paris, pp.683 et 1284

65 - LARSH (J.E.)

Transmission from mother to offspring of immunity against the mouse cestode : Hymenolepis nana var. fraterna.
Am. J. Hyg. 1942, 36, 187-194

66 - LARSH (J.E.)

Studies on the artificial immunisation of mice against infection with the dwarf tapeworm Hymenolepis nana var. fraterna.
Am. J. Hyg. 1944, 39, pp.129 et 123

67 - LARSH (J.E.)

A comparative study of Hymenolepis in white mice and golden hamsters.
J. Parasitol. 1946, 32, 477-479

68 - LARSH (J.E.)

The relatioship in mice of intestinal empting time and natural resistance to Hymenolepis
J. Parasitol. 1947, 33, 79-84

69 - LOCKWOOD (A.P.M.)

"Ringer" solutions and some notes on the physiological basis of their ionic composition.
Comp. Biochem. Physiol. 1961, 2, 4, 241-289

70 - Mc MANUS and MOWRY

Staining methods histologic and histo-chemical
1960, P. Hoeber Inc. U.S.A.

71 - MONIEZ (R.)

Mémoire sur les Cestodes.
Thèse Sciences, Paris, 1881, in-4°,237 p., 12 pl.

72 - MONIEZ (R.)

Sur le Taenia nana parasite de l'homme et sur son cysticerque supposé (Cysticercus tenebrionis)
C.R. Acad. Sc. 1888, CVI, 568

73 - MUSTAKALLIO (K.K.) et SAIKKONEN (J.I.)

The distribution of Quinacrine in Taenia saginata.
Exp. Parasitol. 1954 III, n° 2, 167

74 - NARIHARA

Studies on the post embrional development of Hymenolepis diminuta. Part II : on the development of Cysticercoïd within definitive intermediate host.
Taiwan igaskkoi zasshi, 1937, 36, (4), pp. 732-780

75 - NEVEU-LEMAIRE (M.)

Traité d'Helminthologie médicale et vétérinaire,
Paris 1936, Vigot ed. 486-493

76 - NICOLL (W.), et HINCHIN

On two species of (Cysticercoïds from the rat flea (Ceratophyllus fasciatus) Proceeding of the Zoolog.
Proceeding of the Zoolog. ;1910, 10-13

77 - OGREN (R.E.)

Development and morphology of glandular regions in onchospheres of Hymenolepis nana
Pro. Penna Acad. Sci. 1955, 29, 258-264

78 - OGREN (R.E.)

The mature onchosphère of Hymenolepis diminuta
J. Parasitol. 1961, 47, 197-204

79 - OGREN (R.E.)

Continuity of morphology from onchosphere to early cysticercoïd in the development of Hymenolepis diminuta.
Exp. Parasitol. 1962, 12, 1-6

80 - PIRINGER (W.A.), LUQUE (J.M.) et MEZEY (K.C.)

Destruction of Hymenolepis nana eggs 'in vitro" by the action of various anthelmintic drugs.
Z. Trapenmed Parasit. 1960, 11, 51-57

80 bis - PUJATTI (D.)

Il Gryllodes sigillatus un ospite intermedio della hymenolepis nana, Siebold 1852 - Annali del museo civico di storia naturale Giacomo Doria, 1947-49, 63, 235-241

81 - RANSOM (B.H.)

An account of the tapeworm of the genus Hymenolepis parasitic in man.
Bull. n° 18, Hyg. Lab. U.S. Public. Health and Marine Hospital Service Washington, 1906, 1-138

82 - RANSOM (B.H.)

1921, cité par NEVEU-LEMAIRE (75) p.491

83 - READ (C.P.)

The "crowding effect" in tapeworm infections
J. Parasitol. 1951, 37 174-178

84 - READ (C.P.)

Intestinal physiology and the host-parasite relationship
Some physiological aspects and consequences of parasitism.
Rutgers U.P., 1955, 27-43

85 - READ (C.P.) et PHIFER (K.)

The role of carbohydrates in the biology of Cestodes.
VII - Interactions between individual tapeworms of the same and different species.
Exper. Parasitol. 1959, 8, 46-50

86 - READ (C.P.) et ROTH MAN (A.H.)

The role of carbohydrates in the biology of Cestodes.
The effect of starvation on glycogenesis and glucose consumption in Hymenolepis
Exper. Parasitol. 1957, a, 6, 280-287

87 - READ (C.P.) et ROTHMAN (A.H.)

The role of carbohydrates in the biology, of Cestodes.
Some effects of host dietary carbohydrate on growth and reproduction of Hymenolepis.
Exper. Parasitol. 1957,b, 6, (3), 294-305

88 - REBELLO (S.) GOMEZ DA COSTA (S.F.) et TOSCANO-RICO (J.)

C.R. Soc. Biol. 1928, 98, 470-473 et 995

89 - REID (W.M.)

Penetration glands in tapeworm onchospheres
Biol. Bull. 1946, 91, 232

90 - REID (W.M.)

Penetration glands in cyclophyllidean onchospheres
Trans. Am. Microscop. Soc. 1948, 67, 177-182

91 - REID (W.M.) ALLAMAN (L.) et FITCH (F.)

Some factors involved in the hatching of Hymenolepis diminuta onchospheres.
J. Parasitol, 1951, 37 (5 sect. 2), suppl. 24

92 - ROMAN (E.)

Sur l'infestation des rongeurs par Hymenolepis nana de l'Homme.
Ann. Parasit. Hum. et Comp. 1939, 17, (I), 12-16

93 - ROMAN (E.A.)

La cortisone peut inhiber la résistance à la réinfestation des souris parasitées par des Hymenolepis nana fraterna adultes.
C.R. Ac. Sci 1958, 246, 1468-1470

94 - ROMAN (E.A.)

Possibilité d'infestation par Hymenolepis nana fraterna des rongeurs adultes traités par la cortisone.
C.R. des Séances de la Soc. de Biol. 20 janv. 1958, CLII, n° 1, 105

95 - ROMAN (E.A.)

Traitement de l'oxyurose infantile par divers agents thérapeutiques. Considérations sur quelques essais de médicaments oxyuricides.
J. de Med. de Lyon, 1963, n° 1025 (20 janv.)68/86

96 - ROTHMAN (A.H.)

Studies on the excystement of tapeworms.
Exp. Parasitol. 1959, 8, 336/364

97 - DE SA (Lauretta M.) et COLEMAN (R.)

Effect of indolindoline alkaloïd on the immune response of Hymenolepis nana.
J. Parasitol. 1964, 50, n° 3, sect. 2 (Programme de l'Amer. Soc. of Parasitol. Congrès du 24.8.64).

98 - SAEKI (Yoshihisa)

Experimental studies on the development of Hymenolepis nana.
Jikwa Zasshi (J. of Pediatrics) 1920, n°328, 203/244

99 - SAEKI (Yoshihisa)

An experimental study on the development of the dwarf tapeworm (Hymenolepis nana)
Ann. of Trop. Med. and Parasitol. 1925, XIX, 307

100 - SALT (G.)

Experimental studies in insect parasitism. X - The reactions of some endopterygote insects to an alien parasite.
Proc. Roy. Soc. B., 1957, 147, 167/184

101 - SALT (G.)

The defense reactions of insects to metazoan parasits
Parasitology, 1963, 53, 527/642

102 - SCHILLER (E.L.)

Experimental studies on morphological variations in the cestode genus Hymenolepis. I - Morphology and development of the cysticercoïd of Hymenolepis nana in Tribolium confusum.
Exp. Parasitol. 1959, 8, 91-118

103 - SCHILLER (E.L.)

Experimental studies on morphological variations in the cestode genus Hymenolepis II - Growth development and reproduction of the strobilate phase of Hymenolepis nana in different mammalian host host species.
Exp. Parasitol. 1959, 8, 215/235

104 - SCHILLER (E.L.) READ (C.P.) et ROTHMAN (A.M.)

Preliminary experiments on the growth of a cyclophyllidean cestode in vitro.
J. Parasitol. 1959, 45 (4 sect. 2) 45

105 - SCOTT (H.H.)

A contribution to the experimental study of the life histories of Hymenolepis fraterna Stiles 1906 and Hymenolepis longior Baylis 1922 in the mouse.
J. of Helminthology, 1923, I, 193/196

106 - SEN (A.B.), et HAWKING (F.)

Screening of cesticidal compounds on a tapeworm Hymenolepis nana, in vitro.
Brit. J. Pharmacol. 1960, 15, 436

107 - SHORB (D.A.)

Host-parasite relations of Hymenolepis fraterna in the rat and the mouse.
Amer J. Hyg. 1933, 18, 74

108 - Von SIEBOLD (C. Th.)

Ein beitrag zur Helminthographia humana aus brieflichen Mittheilungen des Dr. Bilharz in Caire.
Zeitschr. f. Wiss. Zoolog. 1852, IV, 53/54

109 - SILVERMAN (P.H.)

Studies on the biology of some tapeworms of the genus Taenia. I - Factors affecting hatching and activation of teaniid ova, and some criteria of their viability.
Ann. Trop. Med. and Parasitol. 1954, 48, 207/215

110 - SILVERMAN (P.H.) et MANEELY (R.B.)

Studies on the biology of some tapeworms of the genus Taenia. III - The role of the secreting gland of the hexacanth embryo in the penetration of the intestinal mucosa of the intermediate host, and some of its histochemical reactions.
Am. Trop. Med. Parasitol. 1955, 49, 326/330

111 - SIMITCH (Tsch.) NEVENITCH (VI.), PETROVITCH (Zl.)

Citellus citellus animal de choix pour démontrer l'identité biologique entre Hymenolepis nana de l'Homme et H. nana var. fraterna du rat.
Arch. Inst. Pasteur d'Algérie, 1953 XXXI, n° 1, 84/90

112 - STEIN (F.)

Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Eingerweider würmer.
Zteitsch f. wiss. Zool 1852, IV, 196

113 - STEWARD (J.S.)

Anthelminthic studies. III - A taeniacidal testing technique.
Parasitology 1955, 45, 255

114 - STILES (C.W.)

The type species of the Cestode genus hymenolepis
Hyg. Lab.U.S. Public Health and Marine Hospital Service Washington, 1903, Bull. n° 13, 19/21

115 - STILES (C.W.)

The darf tapeworm (Hymenolepis nana) a newly recognized and probably rather common american parasite
New York Med. Journal 1903, LXXVIII,877/881

116 - STILES (C.W.)

Illustrated key of the Cestode parasites in man
Hyg. Lab. U.S. Public Health and Marine Hospital Service Washington 1906, bull. n° 25

117 - SUSLOV (I.M.)

Nekotorye voprosy bilogii karlikovogo tsepnya (the biology of hymenolepis fraterna).
Med. Parasitol. i Parazitor. Bolezni, 1958, 27,5 573/575 Referatu. Zhur. Biol. 1959

118 - TAYLOR (A.E.R.)

Axenic culture of the rodent tapeworms H. diminuta and H. nana
Exp. Parasitol. 1961, 11, 176/187

119 - THEILER (G.)

Some recent development in the study of parasitic worms
South african journ. of Sciences 1935, XXXII, 49/71

120 - UCHIMURA (R.)

On the development of Hymenolepis nana and Hymenolepis murina
Jikwa zasski, 1922, n° 268

121 - VOGE (M.)

Helminth infections in small laboratory mammal and methods of obtaining a helminth-free colony
VIIIè Annual Meeting of the animal care panel
1957, 107-112

122 - VOGE (M.)

Sensitivity of developing Hymenolepis diminuta larvae to hight temperature stress.
J. Parasitol. 1959, 45, n° 2, 175/181

123 - VOGE (M.)

Temperature stress and development of Hymenolepis diminuta in Tribolium confusum in different diets
J. Parasitol. 1959, 45, n°6, 591/596

124 - VOGE (M.)

Studies in cysticercoïd histology. Observations on the fully developed cysticercoid of Hymenolepis diminuta
Proceedings of the helminthological Society of Washington
1960, 27, n° 1, 32/36

125 - VOGE (M.)

Studies in cysticercoïd histology. Observations on histogenesis in the cysticercoid of Hymenolepis diminuta. J. Parasitol. 1960, 46, 6, 717/725

126 - VOGE (M.), BERNTZEN (A.K.)

In vitro hatching of onchospheres of Hymenolepis diminuta.
J. Parasitol. 1961, 47, n°5, 813/818

127 - VOGE (M.), GRAIWER (M.)

Development of onchospheres of H. diminuta hatched in vivo and in vitro, in the larvae of Tenebrio molitor
J. Parasitol. 1964, 50 , n°2, 267/270

128 - VOGE (M.) et HEYNEMAN (D.)

Development of Hymenolepis nana and Hymenolepis diminuta (Cestoda Hymenolepididae) in the intermediate host Tribolium confusum.
University of California Publications in Zoology, 1957
59 (9), 549/579

129 - VOGE (M.) et HEYNEMAN (D.)

Effect of high temperature on the larval development of Hymenolepis nana and Hymenolepis diminuta
J. Parasitol. 1958, 44, 249/260

130 - VOGE (M.), HEYNEMAN (D.)

Studies on cysticercoid histology. II - Observation on the fully developed cysticercoid of Hymenolepis nana
Proceedings Helm. Soc. Wash. 1960, 27, 185/188

131 - VOGE (M.) et TURNER (J.A.)

The effect of different temperatures on the development of Hymenolepis diminuta in Tribolium confusum
J. Parasitol 1956, 42, (4è sect. 2) 31, et Exp. Parasitol. 1956, 5 (6) 580/586

132 - WARDLE (R.A.) et GREEN (N.K.)

The cultivation of tapeworms in artificial media.
Canadian Journal of research 1941, D 19, 240

133 - WEINLAND (D.F.)

Human Cestoides. An essay on the tapeworms of man giving a full account of their nature, organization, and embryonic development ; the pathological symptoms they produce, and the remedien wich is added and appendix containing a catalogue of all species of helminthes found in man. 1858, Cambridge, in-8° 93 p.

134 - WEINMANN (C.J.), LEE (D.L.)

Intestinal reactions of immune and normal mice after massive challenge with eggs of H.nana
J. parasitol. 1964, 50, n°3, sect. 2, Congrès du 24.VIII.64 (Am. Soc.Parasitol).

135 - WEINSTEIN (P.P.)

The cultivation of the free living stages of hookworms in the absence of living bacteria
Am. J. Hyg. 1953, 58, 352/376

136 - WETZEL (R.)

Die Beziehungen parasitischer Wurmer zum Wirtstier
Sitzungsherichte der gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin 1935, 8/10, 291/304

137 - WOODLAND (W.N.F.)

On the life cycle of Hymenolepis fraterna (Hymenolepis nana var. fraterna Stiles) on the white mouse.
Parasitology, 1924, 16, 69/83

138 - WOODLAND (W.N.F.)

On the development of the human Hymenolepis nana (Siebold 1852) in the white mouse with remarks on H. fraterna H. longior and H. diminuta
Parasitology. 1924, 16, 424/435

139 - YAMADA (S.), ASADA (J.) et MIYADA

Studies on the life history of a common rat tapeworm H. diminuta, especially on the relation between this tapeworm and rat fleas
Zool. Magazine, 1936, 48 (8/10),437/457

oOo

AGEMP